Mikrobiologische Untersuchungen an Zahnpasten

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Heinz Goedecke und Alfred Häusler

Saarbrücken

1972

Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität des Saarlandes

Direktor: Prof. Dr. med. et phil. W. Zimmermann

Mikrobiologische Untersuchungen an Zahnpasten

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1972

vorgelegt von

Heinz Goedecke und Alfred Häusler

geb. am 16.6.1943 in Dillingen/Saar

geb. am 28.2.1944 in Dudweiler/Saar

Dekan: Prof. Dr. H. Kulenkampff

Referent: Prof. Dr. rer. nat. R. Schweisfurth

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 17.5.1972 abgelegt.

Gliederung

1. Einleitung Seite 1

2. Experimentelle Untersuchungen Seite 3

2.1. Auswahl der Zahnpasten, Testorganismen und Kulturmedien Seite 3

2.2. Untersuchungen auf das Vorliegen von bakterienhemmenden Stoffen mittels Lochplattentest Seite 7

2.2.1. Methodik Seite 7

2.2.2. Ergebnisse Seite 9

2.3. Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration einiger Zahnpasten Seite 21

2.3.1. Methodik Seite 21

2.3.2. Ergebnisse Seite 23

2.4. Inaktivierende Wirkung von Zahnpasten auf Mikroorganismen in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer Seite 24

2.4.1. Methodik Seite 24

2.4.2. Ergebnisse Seite 25

2.5. Untersuchung zur bakteriostatischen oder bakteriziden Eigenschaft von Zahnpasten Seite 29

2.5.1. Methodik des Holzstäbchentests Seite 30

2.5.1.1. Suche nach "Neutralisationsmitteln" Seite 30

2.5.1.2. Ergebnisse Seite 35

2.5.2. Methodik der Membranfiltration Seite 37

2.5.2.1. Ergebnisse Seite 37

2.6. Untersuchungen zur Frage des Keimgehaltes von Zahnpasten Seite 41

2.6.1. Methodik Seite 42

2.6.2. Ergebnisse Seite 43

3. Diskussion der Ergebnisse Seite 47

4. Zusammenfassung Seite 71

5. Literatur Seite 73

6. Lebensläufe

1. Einleitung

Zahnpasten wirken laut Reklame gegen Karies und Mundgeruch, gegen Paradontose und Zahnfleischbluten, verleihen weiße und gesunde Zähne. Die Werbung betont immer wieder die Unentbehrlichkeit der Zahnpasten, macht den Käufer durch die Werbung zahnputzbewußt und fördert so den eigenen Profit aber auch die Mundhygiene, was nötig ist. Nach statistischen Erhebungen aus der Bundesrepublik putzen sich 45 % nie und 37 % nur einmal am Tag die Zähne. (DM-Test, 1969; MICHEL, 1971; WANNENMACHER, 1956) Durch die Reklame wird dem Käufer der Zweck der Zahnpasta suggeriert. Sie verspricht: "Wirksam gegen Mundgeruch und gegen Karies zu sein." Beides kann durch Bakterien hervorgerufen werden. Beim Foetor ex ore muß zwischen den Ursachen des Mundgeruches durch Bakterien und Fäulnisprozesse im Munde selbst und einem Foetor, der auf Magen-, Stoffwechsel- und anderen inneren Erkrankungen beruht, unterschieden werden. (GINS, 1968; MORGENROTH, 1966; PORTHEINE, 1966) Mit Zahnpasten kann nur der im Munde entstehende Foetor ex ore bekämpft werden. Der auf inneren Erkrankungen beruhende Mundgeruch wird durch die Geschmacks- und Geruchsstoffe der Zahnpasten nur überdeckt.

Welche Anforderungen sollen nun aus der Sicht des Zahnmediziners an eine Zahnpasta gestellt werden?

Neben dem mechanischen Effekt durch Putzkörper, Befreiung der Zähne und Schleimhäute von Speise-, Schleim- und Muzinbelägen, Auflösen von Zahnstein, Beeinflussung der Speichelsekretion durch Vermehrung der Speichelmenge, Festigung des Zahnfleisches durch adstringierende oder kapillaraktive Stoffe (SCHWARZ, 1951) soll sie auch eine säurebindende, desodorierende und bakterientötende Wirkung haben. (EULER, 1951; KLIEWE, 1937; KLIEWE, 1939;

MAIER, 1956; NEUGEBAUER, 1970)

Die in der Reklame versprochene Kariesprophylaxe durch Abtötung von Bakterien könnte sinnvoll werden, nachdem ORLAND und Mitarbeiter (1954) an keimfrei aufgezogenen und gehaltenen Ratten gezeigt haben, daß trotz Gaben kariogener Kost deren Zähne kariesfrei blieben, daß es mithin ohne Bakterienbeteiligung keine Karies geben kann. In einem zweiten Versuch mit keimfrei aufgezogenen Ratten überimpfte ORLAND (1954) bestimmte Bakterienstämme in die Mundhöhle und konnte so durch Gaben kohlenhydratreicher Kost per os Karies erzeugen.

LAMMERS (1950) und KLIEWE (1956) wiesen auf das gehäufte Auftreten von Bakterien, besonders Lactobazillen, bei Karies hin. Bis heute konnte jedoch nicht eindeutig nachgewiesen werden, ob Lactobazillen und andere "Säurebildner" Ursache oder Begleiterscheinungen dieses Prozesses sind. Es kann als sicher gelten, daß Kohlenhydrate als Nährsubstrat für Mikroorganismen einen Einfluß auf die Kariesentstehung haben. Durch den Bericht von PEDERSON (1959) ist bekannt geworden, daß bei Grönländern gehäuft Karies auftrat, nachdem sie sich im Zuge der Zivilisation von der nahezu reinen Fett- und Eiweißkost auf die Ernährung mit Kohlenhydraten umstellten. Versuche von KITE und Mitarbeitern (1950) zeigten, daß bei nicht steril aufgezogenen Ratten, die mittels einer Magensonde mit kariogener Kost ernährt wurden, keine Karies auftrat. Hier wurde der Kontakt von Kohlenhydraten und Bakterien im Munde vermieden und gefolgert, daß ohne Kohlenhydrate keine Karies auftreten kann. Es wird ersichtlich, daß weder Kohlenhydrate noch Bakterien allein, sondern nur das Zusammenwirken von Kohlenhydraten mit Bakterien Karies hervorruft. Aus den vielfältigen Ergebnissen der Kariesforschung ergibt sich, daß eine sinnvolle und damit auch

kariesprophylaktische Mundhygiene sich nur dann erzielen läßt, wenn die exzitierenden Faktoren in Form von Belägen, Bakterien und Nahrungsresten weitgehend ausgeschaltet werden. Dispositionelle Faktoren haben zusätzliche Bedeutung.

Für die Entfernung der Beläge bietet sich die mechanische und fermentative Beseitigung an. Die Zahl der Bakterien soll sich durch mechanische Scheuerwirkung und durch antibakteriell wirksame Stoffe verringern. Der mechanische Effekt, hervorgerufen durch "gesunde" Nahrung und tägliche künstliche Mundpflege mit der Zahnbürste wird von Zahnpasten im mechanischen Bereich durch die Putzkörper und Schaumstoffe verstärkt. Weiterhin können in den Zahnpasten verschiedene Heilmittel, - Myrrhenharz, Rosskastanienrinde, Ratanhia, Neemextrakt-, (RATHJE, 1971) Fermente und antibakterielle Zusätze zur Wirkung kommen. Durch Geschmacksstoffe kann außerdem zu vermehrtem und verlängertem Zähneputzen angeregt werden.

Ziel unserer Untersuchung war, die häufig in Reklamen angegebene Wirksamkeit der Zahnpasten gegen Mikroorganismen in vitro zu prüfen. Ferner sollte untersucht werden, ob die in Zahnpasten enthaltenen abtötenden oder vermehrungshemmenden Substanzen innerhalb ihrer Einwirkungsdauer effektvoll sind. Letztlich wurden Zahnpasten auf ihre Sterilität hin geprüft.

2. Experimentelle Untersuchungen

2.1. Auswahl der Zahnpasten, Testorganismen und Kulturmedien

Aus der Vielzahl der im Jahre 1970 in der Bundesrepublik angebotenen Zahnpasten wählten wir in fünf Apotheken des Saarlandes die dort vorrätigen Zahnpasten aus. Auf diese Art erhielten wir 45 verschiedene Zahnpasten (Tabelle 1), von denen

angenommen werden kann, daß sie einen repräsentativen Querschnitt der im Saarland handelsüblichen Zahnpasten darstellen.

Tabelle 1

Namen der ausgewählten Zahnpasten[1]

Actifluor, Adlan Rose, Aronal forte, Aronal Vitamin A+D, Ajona, Dr. Best fluor, Dr. Best Aescin, Blend-a-med, Blendax fluor, Blendax fluor super, Biox fluor, Biox ultra, Chlorodont anticaries, Chlorodont fluor forte, Chlorodont medical, Colgate fluor S, Colgate super, Cruzylan, Dentipur, Deterdent, Dontomed, Duro 35, Durodont, Elmex, Emoform, Fluocaril, Friscodent, Jod Kaliklora, Kukident, Kolynos, Lacalut fluor, Lacalut spezial, Odol, Ondrony, Parodontax, Pepsodent LD 3, Pepsodent fluor 67, Selgin, Sensatol, Sensodyne, Signal fluor extra, Ultraweiss, Vademecum, Vademecum fluor, Weleda.

Anmerkung: 1) Die Reihenfolge der Zahnpasten in den Versuchsreihen entspricht nicht der alphabetischen Anordnung.

An Nährmedien wurden die für die verschiedenen Tests notwendigen Agarplatten in folgender Zusammensetzung verwendet.

1. Blutagar 1,5 %

Fleischextrakt (Pulver, Merck) 5,0 g; Pepton (tryptisch, Merck) 10,0 g; Na Cl 5,0 g; Agar-Agar Oxoid Nr. 3 15,0 g; Aqua dest. 1000 ml; pH 7,2-7,4; Menschenblutzusatz 5 %

2. Fleischextraktagar

Fleischextraktpulver 2,4 g; Pepton 5,0 g; Agar-Agar Oxoid 9,0 g; Aqua dest. 1000 ml; pH 7,2-7,4; NaCl 5,0 g

3. Fleischextraktbouillon

Wie Medium Nr. 2, jedoch ohne Agar-Agar

4. Biomalzagar (für Candida albicans)

Handelsübliches Biomalz (ohne Zusätze) wird auf 1,025 ° Bé gespindelt und zu 1000 ml 15,0 g Agar-Agar (Oxoid) zugesetzt.

5. MRS-Acetat-Agar (für Milchsäurebakterien)

Peptone (Oxoid) 10,0 g; Lab Lemco 10,0 g; Yeast Extrakt 5,0g; Glucose 20,0 g; Tween 80 1 ml; K_2HPO_4 2,0 g; CH_3 $COONa \cdot 3H_2O$ 5,0 g; Di-Ammoniumhydrogencitrat 2,0 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 200 mg; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 50 mg; Aqua dest. 1000 ml; pH 6,0-6,5 after sterilizing, before 6,2-6,6; Agar-Agar Oxoid Nr. 3 1 %

Als Teststämme wurden Mikroorganismen verwandt, die in der Mundhöhle am häufigsten vorkommen. Nach BERGER (1955) werden diese Mikroorganismen in eine Standorts- und Durchgangsflora eingeteilt. Zur Standortsflora gehören unter den Aerobiern in der Reihenfolge der Häufigkeit ihres Vorkommens vergrünende Streptokokken (60-90 %), Neisserien, Mikrokokken, Corynebakterien, Diplokokken, unter den Anaerobiern Lactobazillen. Pathogene Keime sind besonders durch Staphylococcus aureus und hämolysierende Streptokokken vertreten. An Pilzen finden sich vorwiegend Candida albicans und andere Candida-Arten.

Zur Durchgangsflora der Mundhöhle gehören viele der beim Menschen vorkommenden Bakterien, wie Enterokokken, Escherichia, Klebsellia, Proteus und Pseudomonas.

Um einige der aufgezählten Bakterien für unsere Untersuchungen in frischer Kultur zu erhalten, wurden von zehn Probanden mittels sterilen Zahnreinigungsinstrumenten jeweils drei Proben von Zahnbelägen und Speiseresten interdental entnommen, auf Blut-, Endo- und Zeislerplatten ausgestrichen, nach 24 Stunden Bebrütung qualitativ ausgewertet (Tabelle 2) und anschließend isoliert. Eine Übereinstimmung mit der bei BERGER aufgeführten Reihenfolge wurde ersichtlich.

Tabelle 2 Zusammenstellung der bei 10 Personen am häufigsten gefundenen Bakterien

Versuchsperson	gefundene Mikroorganismen
1	vergrünende Streptokokken +++
	Neisserien +++
	Sarzinen +
2	vergrünende Streptokokken +++
	Neisserien +++
3	hämolysierende Streptokokken ++
4	vergrünende Streptokokken +++
	Neisserien +++
5	Neisserien +++
6	vergrünende Streptokokken +++
7	vergrünende Streptokokken +++
	Neisserien +++
	Mikrokokken -
8	vergrünende Streptokokken +++
	Neisserien +++
	Bacillus mycoides +
9	Neisserien +++
	Staphylococcus albus +
10	vergrünende Streptokokken +++
	Neisserien +++
	Mikrokokken +
	Nocardien -

Anmerkung: Die Proben wurden um 16 Uhr aus den Mundhöhlen entnommen. Auf den parallel beimpften Endoplatten kam es nicht zur Ausbildung typischer Kolonien von gram-negativen Stäbchen. Grob qualitative

Auswertung von - bis +++ zunehmend stark vertreten.

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir von den in Tabelle 2 aufgeführten Stämmen vergrünende Streptokokken, hämolysierende Streptokokken (A), Neisserien, Mikrokokken und Nocardia. Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Proteus vulgaris, Staphylococcus aureus und Staphylococcus albus wurden von Patientenmaterial isoliert. Lactobazillus acidophilus (ATCC 4356), Streptococcus lactis (Kiel 3038), Bacillus subtilis (ATCC 6633) und Candida albicans stammen aus der Sammlung des Instituts. Außerdem benutzten wir für die Versuche eine "Mischflora", die durch interdentale Entnahme von Belägen und Speiseresten bei den Autoren jeweils frisch gewonnen wurde.

2.2. Untersuchungen auf das Vorliegen von bakterienhemmenden Stoffen mittels Lochplattentest

2.2.1. Methodik

Die Bakterienrasen wurden von den entsprechenden Medien nach einer Bebrütungsdauer von 18 bis 24 Stunden bei 37° C mit einer Platinöse von den Platten abgestrichen und mittels Bakterienmühlen und sterilem Leitungswasser Bakteriensuspensionen hergestellt, die im Photometer bei 546 nm auf eine Extinktion von 0,35 E verdünnt wurden. Hierdurch sollte die Ausgangskonzentration der Bakterien für Kontrollversuche reproduzierbar sein. Danach spatelten wir von dieser Suspension 0,1 ml auf die entsprechenden Medien aus und stellten die Petrischalen für 1/2 bis 3/4 Stunde mit angehobenen Deckeln bei 37° C zum Trocknen in den Brutschrank. Die Agarplatten wiesen stets die gleiche Dicke auf. Anschließend wurden pro Platte sechs Löcher in den Agar gestanzt und die Agarscheiben mittels

eines Glasröhrchens und Unterdruck abgesaugt. In die Löcher wurde mit Hilfe von sterilen Einwegspritzen 0,07 cm^3 Zahnpasta gefüllt und nach einer Diffusionszeit von vier Stunden bei 6° C 18 bis 24 Stunden bei 37° C bebrütet und die Hemmhofgröße ausgemessen. Die Hemmhöfe wurden mit Zirkel und Lineal vom Lochrand bis zur deutlich erkennbaren Grenze des Bakterienwachstums gemessen.

In weiteren Ansätzen wurden Zahnpastaverdünnungen von 1:10 und 1:100 in sterilem, chlorfreiem Leitungswasser geprüft.

In einem Vorversuch wurde ermittelt, ob eine Beziehung zwischen der Keimzahl und der Hemmhofgröße besteht, da bei der Trübungsmessung im Photometer zwar konstante Vergleichswerte erhalten werden, die Zellzahlen jedoch für die verschiedenen Bakterienarten verschieden sind. Von Proteus und Neisseria wurden in Photometer Verdünnungen von jeweils 0,15; 0,25; 0,35; 1,5 E hergestellt, die Keimzahlen nach dem Plattenverdünnungsverfahren ermittelt (Tabelle 4), und die verschiedenen Suspensionen im Lochtest gegen Zahnpasta geprüft.

Tabelle 3 Keimzahlen/ml bei verschiedenen Extinktionswerten

Extinktionswerte	Proteus	Neisseria
0,15	$133 \cdot 10^6$	$8,5 \cdot 10^6$
0,25	$286 \cdot 10^6$	$21 \cdot 10^6$
0,35	$413 \cdot 10^6$	$38 \cdot 10^6$
1,5	$3 \cdot 10^9$	$207 \cdot 10^6$

Trotz unterschiedlicher Keimzahlen/ml waren die Hemmhöfe bei ein und demselben Stamm gleich groß, die Hemmwirkung

der Zahnpasten also innerhalb der gegebenen Keimzahlen nicht von den getesteten Suspensionsdichten abhängig.

Da Zahnpasten flüchtige Bakterizide enthalten können, wurde in einem weiteren Vorversuch untersucht, ob hierdurch eine Beeinflussung des Lochplattentests zu befürchten war. Für die Versuche wurden auf die Deckel von Petrischalen Zahnpasta gegeben, wodurch sie mit den Stämmen nicht in direkten Kontakt kommen konnten. Als Kontrolle dienten mit Chloroform oder Formalin getränkte Filtrierpapierstreifen. Im Gegensatz zu den Kontrollen, bei denen das Bakterienwachstum gehemmt wurde, konnte bei den Zahnpasten keine Hemmung von Neisseria, Lactobacillus, Pseudomonas, Nocardia, Staphylococcus albus und hämolysierenden Streptokokken beobachtet werden. Somit konnten mehrere verschiedene Zahnpasten im Lochtest auf einer Platte geprüft werden.

2.2.2. Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 4 (unverdünnte Zahnpasta) und Tabelle 5 (1:10 verdünnte Zahnpasta) zusammengefaßt. Die Reihenfolge der getesteten Zahnpasten zeigt Tabelle 6. Eine 1:100 Verdünnung der Zahnpasten ergab bei keinem der getesteten Stämme einen meßbaren Hemmhof.

Tabelle 4: Ergebnisse des Lochtests mit unverdünnter Zahnpasta

Zahnpasta Nr.	Mischfl.	vergr. Strep.	Weiss. I	Weiss. II	Micro. I	Micro. II	Noc.	häm. Strep.	Pseudo.	E. coli	Prot.	Sta.aur.	Sta.alb.	Lacto.	Str. lact.	B. subt.	C. alb.	Index Z
1	5	12	10	14	5	6	15	4	1	4	6	5	6	12	6	5	8	7,8
2	5	6	6	14	4	3	10	2	0	2	1	4	3	8	3	5	6	4,2
3	5	5	6	14	4	2	9	2	0	0	1	3	3	7	3	4	5	4,2
4	5	7	10	14	5	6	8	2	0	0	0	2	1	6	2	5	2	4,3
5	5	6	7	14	5	3	10	4	5	0	0	4	2	8	3	4	5	4,9
6	5	7	6	14	4	3	9	3	0	0	0	3	4	6	3	4	6	4,5
7	3	4	5	14	3	2	7	2	0	0	0	3	2	6	2	4	5	3,6
8	2	5	5	13	3	2	6	2	0	0	0	3	2	6	2	4	5	3,5
9	11	14	16	14	11	13	17	7	11	7	10	15	11	13	10	13	10	11,9
10	1	4	4	6	2	2	6	1	10	0	0	4	1	4	1	1	3	2,9
11	2	4	6	5	3	3	7	2	0	0	0	3	2	7	2	4	6	3,3
12	2	4	6	10	3	2	7	2	0	1	1	3	2	6	2	3	5	3,4
13	4	6	8	14	3	3	8	2	0	0	1	4	3	7	3	4	7	4,4
14	0	2	5	14	2	1	5	3	0	3	0	1	1	15	1	1	1	3,2
15	6	6	11	14	0	7	11	0	0	0	0	7	0	5	0	6	0	4,2

Tabelle 4: Ergebnisse des Lochtests mit unverdünnter Zahnpasta

Zahnpasta Nr.	Mischfl.	vergr. Strep.	Neiss. I	Neiss.II	Micro. I	Micro.II	Noc.	häm. Strep.	Pseudo.	E. coli	Prot.	Sta.aur.	Sta.alb.	Lacto.	Str. Lact.	B. subt.	C. alb.	Index Z
16	1	2	6	7	1	0	3	0	0	0	0	2	0	0	0	1	1	1,4
17	3	6	7	9	4	4	8	2	0	0	0	4	3	7	3	5	7	4,2
18	3	3	5	9	3	2	7	1	0	0	0	2	2	6	2	3	6	3,2
19	0	0	1	14	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1,2
20	3	5	6	13	4	4	8	3	0	0	1	3	3	6	2	4	6	4,2
21	0	0	0	6	0	0	3	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0.6
22	5	6	6	12	4	3	9	3	0	0	0	3	3	7	3	4	7	4,3
23	3	3	5	10	3	2	8	3	0	0	1	3	2	5	2	4	5	3,5
24	2	3	4	9	3	2	7	1	0	0	0	2	1	6	1	3	4	3,4
25	5	7	8	8	4	4	10	4	0	0	0	5	3	11	2	6	3	4,8
26	3	5	6	9	4	3	8	2	0	0	1	4	3	8	2	4	6	4,0
27	3	4	6	14	4	3	8	3	0	0	1	2	2	7	2	3	7	4,0
28	3	5	6	9	3	2	7	3	0	0	1	2	2	7	2	3	8	3,7
29	3	4	6	6	3	2	7	3	0	0	1	2	2	8	2	4	6	3,4
30	10	13	10	14	9	11	17	1	7	6	4	3	11	7	7	9	12	8,8

Tabelle 4: Ergebnisse des Lochtests mit unverdünnter Zahnpasta

Zahnpasta Nr.	Mischfl.	vergr. Strep.	Neiss. I	Neiss.II	Micro. I	Micro.II	Noc.	häm. Strep.	Pseudo.	E. coli	Prot.	Sta. aur.	Sta. alb.	Lacto.	Str. Lact.	B. subt.	C. alb	Index-Z
31	3	6	8	13	5	4	11	3	0	3	2	5	4	16	4	4	9	5,9
32	0	2	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5
33	3	4	6	14	4	0	10	3	0	0	0	2	2	6	3	3	7	3,9
34	0	1	0	14	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1,2
35	11	15	14	14	11	18	22	4	12	11	6	7	14	23	9	12	16	12,8
36	0	0	2	13	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	5	1,4
37	3	4	5	14	3	2	8	2	0	0	1	3	2	7	2	4	6	3,8
38	3	5	6	14	4	4	8	3	0	1	1	3	3	8	3	4	9	4,5
39	3	7	8	14	4	4	12	4	0	0	0	4	3	8	3	9	6	5,2
40	2	5	6	14	4	3	9	2	0	0	0	3	3	7	3	4	9	4,2
41	3	4	5	14	4	2	9	3	0	0	1	3	2	6	2	3	7	3,9
42	3	4	6	13	4	2	9	3	0	0	2	3	2	6	2	4	7	4,2
43	5	4	6	5	4	3	7	2	0	0	1	3	2	7	3	4	6	3,7
44	3	4	5	4	3	4	7	3	0	0	0	3	2	6	2	4	4	3,2
45	3	4	5	5	4	2	8	3	0	0	0	3	2	7	2	4	6	3,3
Index	3,6	5,1	6,1	10,4	3,6	3,4	8,4	2,3	1,0	0,8	0,9	3,2	2,7	6,9	2,5	4,0	5,6	

Tabelle 5: Ergebnisse des Lochtests mit 1 : 10 verdünnter Zahnpasta

Zahnpasta Nr.	Mischfl.	vergr. Strep.	Neiss. I	Neiss.II	Micro. I	Micro.II	Noc.	häm. strep.	Pseudo.	E. coli	Prot.	Sta.aur.	Sta.alb.	Lacto.	Str. Lact.	B. subt.	C. alb.	Index Z
1	3	4	8	5	4	3	8	1	0	0	1	3	3	7	3	5	5	3,7
2	2	2	3	3	2	0	5	0	0	0	0	0	0	3	0	2	1	1,3
3	2	2	3	2	2	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0,9
4	2	1	4	1	0	0	-	0	0	0	0	0	0	2	0	3	0	0,8
5	2	2	7	1	2	0	6	0	0	0	0	1	0	3	0	2	2	1,6
6	2	2	4	2	2	0	5	0	0	0	0	1	1	3	0	1	2	1,5
7	2	2	3	2	1	0	5	0	0	0	0	1	0	3	0	1	2	1,3
8	2	2	4	2	2	0	6	0	0	0	0	1	0	2	1	1	3	1,5
9	6	4	4	4	0	2	7	1	2	1	0	1	1	4	0	2	2	2,4
10	0	4	3	2	1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0,9
11	1	2	3	2	2	0	5	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	1,2
12	2	2	4	3	2	0	4	0	0	0	0	0	0	3	0	1	2	1,4
13	2	3	4	2	0	6	1	0	0	0	0	1	0	4	1	1	2	1,8
14	0	2	2	2	2	1	0	1	0	0	0	2	0	7	0	0	0	1,1
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0

Tabelle 5: Ergebnisse des Lochtests mit 1 : 10 verdünnter Zahnpasta

Zahnpasta Nr.	Mischfl.	vergr. Strep.	Neiss. I	Neiss. II	Micro. I	Micro. II	Noc.	häm. Strep.	Pseudo.	E. coli	Prot.	Sta.aur.	Sta. alb.	Lacto.	Str. Lact.	B. subt.	C. alb.	Index-Z
16	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2
17	2	4	5	5	3	0	6	0	0	0	0	2	1	2	1	3	4	2,2
18	1	2	3	2	1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0,9
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	2	3	3	3	2	0	5	1	0	0	0	1	1	0	1	3	3	1,6
21	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	2	3	4	3	2	0	6	1	0	0	0	0	0	2	0	3	4	1,8
23	2	2	3	3	3	0	4	0	0	0	0	1	0	2	1	3	2	1,5
24	1	3	4	2	2	0	5	0	0	0	0	1	0	4	0	2	2	1,5
25	2	0	5	3	2	0	5	0	0	0	0	0	0	5	1	2	1	1,5
26	2	3	4	1	2	0	6	1	0	0	0	1	0	2	1	2	2	1,6
27	2	2	3	3	2	0	5	1	0	0	0	1	1	1	1	2	2	1,5
28	2	2	3	3	2	0	5	1	0	0	0	1	1	1	1	2	2	1,5
29	2	2	3	3	2	0	5	2	0	0	0	1	0	0	1	1	2	1,4
30	3	0	3	5	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	1,4

Tabelle 5: Ergebnisse des Lochtests mit 1 : 10 verdünnter Zahnpasta

Zahnpasta Nr.	Mischfl.	vergr. Strep.	Neiss. I	Neiss.II	Micro. I	Micro.II	Noc.	häm. Strep.	Pseudo.	E. coli	Prot.	Sta.aur.	Sta.alb.	Lacto.	Str. Lact.	B. subt.	C. alb.	Index-Z
31	2	3	5	3	2	0	6	1	0	0	0	1	0	3	1	2	2	1,8
32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	2	1	4	4	2	0	5	1	0	0	0	0	0	1	0	0	4	1,4
34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35	7	13	8	8	11	5	18	3	3	5	1	3	11	3	7	8	6	7
36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	2	2	3	3	2	0	5	0	0	0	0	1	0	1	1	3	1	1,4
38	1	0	4	3	2	0	6	1	0	0	0	0	0	1	1	2	2	1,4
39	2	2	7	3	2	0	7	2	0	0	0	3	0	5	1	3	1	2,2
40	2	2	5	2	2	0	6	1	0	0	0	0	0	2	1	2	2	1,6
41	2	2	3	2	2	0	5	1	0	0	0	1	0	1	1	2	2	1,4
42	2	2	3	2	1	0	4	1	0	0	0	1	0	1	1	1	2	1,2
43	2	2	4	2	2	0	5	1	0	0	0	0	0	0	1	2	2	1,4
44	2	2	3	3	2	0	5	2	0	0	0	0	0	1	1	2	2	1,5
45	2	3	3	1	2	0	5	1	0	0	0	2	0	1	1	1	2	1,6
Index B	18	2,1	31	21	1,8	0,1	4,5	0,6	0,1	0,1	0,04	0,7	0,4	1,8	0,7	1,8	1,8	

Anmerkung: In Tabelle 4 und 5 wurden als Abkürzungen verwendet:

Mischfl.	für Mischflora
ver. Strep.	für vergrünende Streptokokken
Neiss. I	für Neisseria I
Neiss. II	für Neisseria II
Micro. I	für Mikrokokken I
Micro. II	für Mikrokokken II
Noc.	für Nocardia
häm. Strep.	für hämolysierende Streptokokken
Pseudo.	für Pseudomonas
E. coli	für Escherichia coli
Prot.	für Proteus
Sta. aur.	für Staphylococcus aureus
Sta. alb.	für Staphylococcus albus
Lacto.	für Lactobazillen
Str. lact.	für Streptococcus lactis
B. subt.	für Bacillus subtilis
C. alb.	für Candida albicans

Die in Tabelle 4 und 5 aufgeführten Zahlenwerte geben die Hemmhofgröße in mm an. Hierbei wurden nur ganze Zahlen angegeben. Der Index Z gibt die Mittelwerte der Hemmhöfe aller getesteten Bakterienarten jeweils für eine Zahnpasta an. Der Index B gibt die Mittelwerte der Hemmhofgröße aller Zahnpasten gegen jeweils eine Bakterienart an.

Bei Parallelansätzen traten Abweichungen von $\pm$ 1 mm für jeden Stamm und jede Zahnpasta auf.

Tabelle 6: Reihenfolge der getesteten Zahnpasten

Zahnpasta Nr.	Name	Zahnpasta Nr.	Name
1	Ajona	24	Ondrony
2	Vademecum	25	Super-Colgate
3	Vademecum fluor	26	Duro 35
4	Actifluor	27	Signal fluor extra
5	Ultraweiss	28	Pepsodent fluor 67
6	Friscodent	29	Pepsodent LD3
7	Fluor-Lacalut	30	Sensatol
8	Lacalut spezial	31	Dontomed
9	Emoform	32	Adlan Rose
10	Sensodyne	33	Fluocaril
11	Weleda	34	Dentipur
12	Aronal forte	35	Parodontax
13	Aronal Vitamin A + D	36	Blend-a-med
14	Elmex	37	Blendax fluor
15	Jod Kaliklora	38	Blendax fluor super
16	Cruzylan	39	Colgate fluor S
17	Deterdent	40	Kolynos
18	Kukident	41	Dr. Best fluor
19	Selgin	42	Dr. Best Aescin
20	Odol	43	Biox fluor
21	Chlorodont medical	44	Biox ultra
22	Chlorodont fluor forte	45	Durodont
23	Chlorodont anticaries		

Aus den Daten der Tabelle 4 geht hervor, daß jede Zahnpasta die Vermehrung von Bakterien hemmt. Es enthält also jede Zahnpasta Substanzen, die zumindest ihrer Konservierung dienen können.

Die Art der Biozide und möglicherweise auch deren Konzentration sind jedoch verschieden. Den höchsten Biozidindex (Z) weisen die Zahnpasten 35 und 9 auf. In beiden Fällen werden jedoch A-Streptokokken weniger stark gehemmt, als alle anderen Testorganismen. Es folgen die Zahnpasten 30 und 1 mit einem Index Z von 8,8 und 7,8. Den geringsten Biozidgehalt haben die Zahnpasten 21 und 32 (Z von 0,6 und 0,5), die nur den empfindlichsten der beiden Neisserienstämme zu hemmen vermögen. Einen etwas höheren Z-Index haben die Zahnpasten 16, 19, 34 und 36 mit Werten von 1,2 - 1,4, die in ihrer Wirkung auf die verschiedenen Bakterienarten jedoch nicht gleich sind. Das Gros der Zahnpasten fällt weder durch hohe noch tiefe Biozidkonzentration auf.

Am widerstandsfähigsten gegenüber den Bioziden der getesteten Zahnpasten sind Escherichia coli, Proteus vulgaris und Pseudomonas aeruginosa (B-Index von 0,8, 0,9 und 1,0), gefolgt von A-Streptokokken, Streptococcus lactis und Staphylococcus albus (B-Index 2,3; 2,5 und 2,7). Es folgen Staphylococcus aureus, Micrococcus II und I, die Mischflora, Bacillus subtilis, vergrünende Streptokokken, Candida albicans, Neisseria I, Lactobacillus acidophilus, Nocardia und Neisseria II.

Bei allen Zahnpasten wirkte sich die Verdünnung erwartungsgemäß verringernd auf die Hemmhofgröße aus. Ein direktes Verhältnis in der Wirkung zwischen verdünnter und unverdünnter Zahnpasta ließ sich nicht immer nachweisen. Zahnpasten, die in

konzentriertem Zustand ein größeres Wirkungsspektrum aufwiesen, müßten bei einem Vergleich mit schwach wirksamen Zahnpasten in der Verdünnung 1 : 10 auch bessere Resultate in Bezug auf die Wachstumshemmung der Teststämme zeigen. Dies ist bei der Mehrzahl der von uns getesteten Zahnpasten auch der Fall. Bei einigen Zahnpasten jedoch ist diese Relation verschoben. Hier zeigten Zahnpasten, die in konzentriertem Zustand schwächer wirksam waren, in ihrer Verdünnung 1 : 10 bessere Resultate auf den durchschnittlichen Hemmhof.

Da pH-Werte unter 6,0 und über 8,5 beim Lochplattentest eine Giftwirkung vortäuschen könnten, wurden die pH-Werte jeder Zahnpasta ermittelt und anschließend versucht, eine Korrelation zwischen Hemmhofgröße und pH-Wert herzustellen. Für die Versuche wurden 0,5 ml Zahnpasta in 4,5 ml Aqua dest. suspendiert und elektrometrisch gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 dargestellt. (siehe Seite 20)

Bei einigen Zahnpasten wurde die Beobachtung gemacht, daß am Lochrand, an dem die Testkeime gehemmt wurden, Wachstum anderer Bakterien auftrat. Wir vermuteten, daß diese Rasen auf Bakterien zurückzuführen sind, die bereits in der Zahnpasta enthalten waren und gegen das Biozid Resistenz aufwiesen. (Vergl. Seite 36 und Seite 67) Da diese Erscheinung des Bakterienrasens an der Kontaktzone zwischen Zahnpasta und Blutagar beim Lochplattentest für die Ablesung bedeutungslos war, wurde darauf nicht eingegangen, sondern diese Tatsache nur vermerkt.

Tabelle 7: pH-Werte der getesteten Zahnpasten

Zahnpasta-Nr.	pH-Wert	Zahnpasta-Nr.	pH-Wert
1	[8,7][1]	24	7,5
2	8,5	25	7,3
3	8,4	26	7,2
4	-	27	6,3
5	7,7	28	6,3
6	[9,1]	29	7,2
7	6,4	30	8,5
8	(5,0)	31	6,8
9	[8,6]	32	[9,3]
10	7,8	33	8,4
11	[9,1]	34	[8,7]
12	8,1	35	8,1
13	8,4	36	[8,7]
14	6,0	37	[9,1]
15	8,3	38	6,8
16	7,9	39	7,3
17	7,9	40	8,4
18	7,5	41	6,9
19	8,1	42	7,7
20	6,7	43	[9,0]
21	(5,1)	44	7,8
22	7,2	45	8,0
23	[8,9]		

Anmerkung: 1) Die Zahnpasten mit einem pH-Wert unter 6,0 wurden mit einem ovalen Zeichen, die Zahnpasten mit einem pH-Wert über 8,5 mit einem Rechteck kenntlich gemacht.

Beim Vergleich der pH-Werte mit den Ergebnissen des Lochtests läßt sich keine Korrelation zur Hemmhofgröße erkennen. Offenbar reicht die Pufferkapazität der eiweißreichen Medien aus, um den pH-Effekt auszugleichen.

Aus verschiedenen Zahnpasten in den Blutagar diffundierende Substanzen führten zu Hämolysezonen um die Löcher. Hierbei wurden einfache und doppelte Hämolysehöfe gefunden.

Beziehungen zwischen der Größe der Hemmhöfe und den Hämolysezonen lagen nicht vor.

2.3. Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration einiger Zahnpasten

Während der Lochplattentest eine generelle Aussage über diffundierende Mikrobiozide gibt, müssen quantitative Aussagen über die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration mit anderer Methodik angesetzt werden.

2.3.1. Methodik

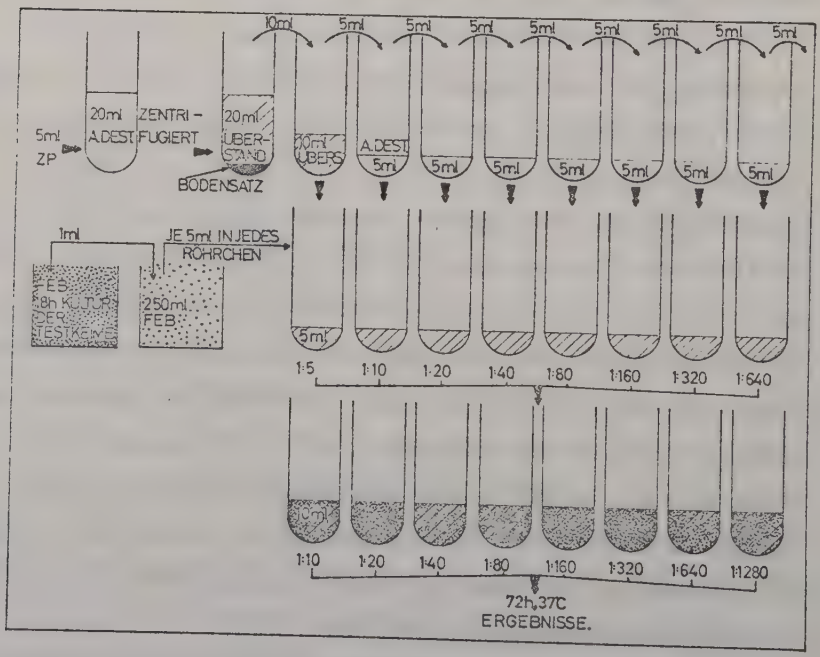
Da die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) eines Giftes auf einfachste Weise über vorhandene oder fehlende Trübung der Nährlösung, verursacht durch das Auftreten oder Fehlen von Bakterienwachstum, abgelesen wird, müßten bei den Zahnpasten die partikulären Anteile vor dem Ansatz der Versuchsreihen entfernt werden. In 20 ml Aqua dest. wurden 5 ml Zahnpasta mittels einer sterilen Einwegspritze gegeben und durch Schütteln suspendiert. Diese Suspensionen wurden anschließend 10 Minuten bei 6000 U/min. abzentrifugiert. 10 ml des nun klaren Überstandes wurden in ein Reagenzglas gegeben. Die weiteren Verdünnungen wurden so hergestellt, daß in sieben Reagenzgläser je 5 ml Aqua dest. vorgelegt und aus dem ersten Röhrchen 5 ml in das zweite und nach gutem Durchmischen wiederum 5 ml in das dritte und so weiter gegeben wurde. Nach Durchmischung des siebten Röhrchens wurden die restlichen 5 ml verworfen. Es lagen nun acht Reagenzgläser mit je 5 ml der Verdünnung des Überstandes vor.

Von den 18 Stunden alten Teststämmen wurden Verdünnungen in sterilem Leitungswasser hergestellt, diese photometriert und von der auf eine bestimmte Suspensionsdichte eingestellten

Lösung 1 ml in 250 ml der Impflösung gegeben. Diese bestand aus doppelt konzentrierter Fleischextraktbouillon. In jedes der acht mit den Verdünnungen des Überstandes beschickten Röhrchen wurden 5 ml der beimpften Fleischbouillon gegeben. Die Endkonzentration der Giftverdünnungen betrug in der Reihenfolge der Röhrchen 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80, 1 : 160, 1 : 320, 1 : 640 und 1 : 1280.

Abbildung 1 zeigt schematisch den Versuchsablauf.

Abbildung 1: Versuchsablauf der minimalen Hemmkonzentration



Der Versuch wurde mit den sechs Zahnpasten durchgeführt, die unter Berücksichtigung des im Lochplattentest ermittelten Index Z ausgewählt wurden. Es erschienen uns hierfür zwei Zahnpasten mit starkem (Nr. 35 und 9), mittlerem (Nr. 7 und 37) und schwachem (Nr. 19 und 32) Wirkungsspektrum geeignet. Als Teststämme dienten die im Lochplattentest empfindlichen Neisseria I und der weniger empfindliche Bacillus subtilis. Die fertig beschickten Röhrchen wurden 72 Stunden bei 37° C bebrütet. Danach wurde visuell das noch Trübung zeigende Röhrchen ermittelt. Das vorhergehende, noch klare Röhrchen gab dann die MHK an. (WALLHÄUSER, 1967)

2.3.2. Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengefaßt.

Tabelle 8 Minimale Hemmkonzentration von sechs Zahnpasten für Neisseria I und Bacillus subtilis

Zahnpasta Nr.	Neisseria I	Bacillus subtilis
9	1: 640	1: 320
35	1: 640	1: 320
7	1: 640	1: 320
37	1:1280	1:1280
19	1: 10	1: 10
32	1: 10	1: 10

Anmerkung: Wiederholungsversuche zeigten die gleichen Ergebnisse.

Übereinstimmend mit dem Lochplattentest war Bacillus subtilis resistenter als Neisseria. Übereinstimmung wurde auch bei den Zahnpasten 19 und 32 gefunden, die im Lochplattentest ebenfalls

nur eine geringe Hemmwirkung gezeigt hatten.

Die im Lochplattentest getroffene Unterscheidung zwischen den mittel- (Nr. 7 und 37) und stark toxischen Zahnpasten (Nr. 9 und 35) trat bei der Bestimmung derMHK nicht in gleichem Maße in Erscheinung.

2.4. Inaktivierende Wirkung von Zahnpasten auf Mikroorganismen in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer

Nachdem der Lochplattentest und die Bestimmung der MHK gezeigt hatten, ob und bis zu welcher Konzentration die Zahnpasten inaktivierend auf Bakterien wirken, wurde weiter untersucht, wieviel Zeit für die Abtötung von Bakterien benötigt wird. Die Untersuchungen sind besonders interessant, da der erforderliche Zeitbedarf zur optimalen Gebißreinigung 4,5 min. beträgt. (GÜLZOW, 1970; HEINRICH, 1970; KETTERL, 1969; WANNENMACHER, 1947) In der Praxis überschreitet aber der durchschnittliche Zeitaufwand für das Zähneputzen selten eine Minute. (EGGERS, LURA, 1954) Da aus versuchstechnischen Gründen eine Einwirkungsdauer von unter einer Minute nicht zu untersuchen war, wurde als minimale Einwirkungszeit eine Minute gewählt.

2.4.1. Methodik

Die Versuche wurden mit Neisseria I, Bacillus subtilis und Escherichia coli durchgeführt. Von den nach der gleichen Methode wie beim Lochtest hergestellten Bakteriensuspensionen wurden 0,2 ml in 45 ml Fleischextraktbouillon gegeben, 18 Stunden bei 37° C in einem Schüttelapparat bebrütet und die Keimzahlen nach dem Plattenverdünnungsverfahren bestimmt. Sofort nach der Entnahme von 1 ml zur Bestimmung der Keimzahlen wurden in jeden Erlenmeyerkolben 5 ml 1 : 10 verdünnter Zahn-

pasta gegeben und nach 1, 2, 4, 8, 16, 32 und 60 Minuten erneut Keimzahlbestimmungen nach dem Plattenverdünnungsverfahren durchgeführt.

2.4.2. Ergebnisse

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tabelle 9 zusammengefaßt. Diese Tabelle zeigt die Anfangskeimzahlen und die Keimzahlen nach der entsprechenden Einwirkungsdauer der Zahnpasten für Neisseria I.

Tabelle 9: Wirkung von Zahnpasten auf Neisseria I

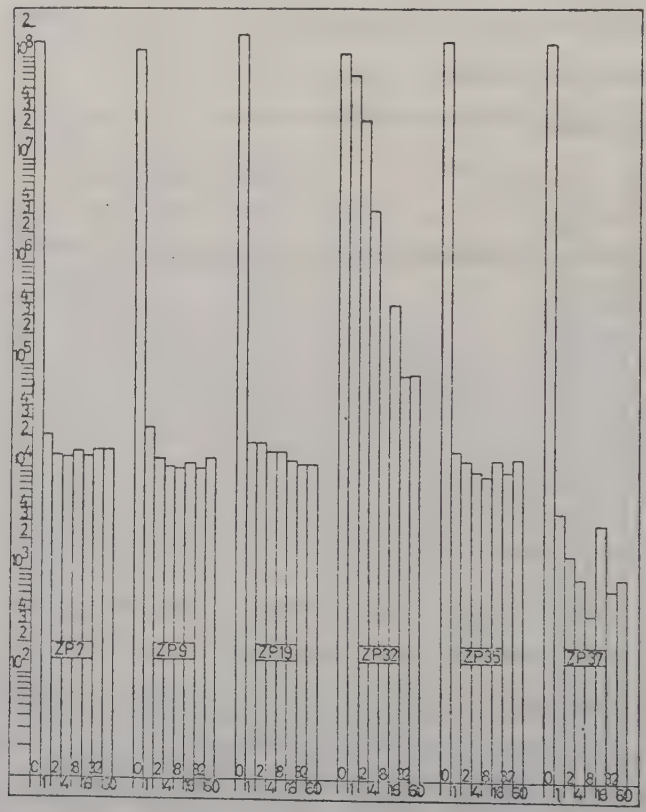
Zahnpasta Nr.	Anfangskeimzahl	Keimzahlen nach min 1'	2'	4'	8'	16'	32'	60'
7	$535 \cdot 10^6$	0	0	0	0	0	0	0
9	$490 \cdot 10^6$	0	0	0	0	0	0	0
19	$516 \cdot 10^6$	$8 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$	$7 \cdot 10^4$	0
32	$562 \cdot 10^6$	$117 \cdot 10^6$	$11 \cdot 10^6$	$9 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^4$
35	$413 \cdot 10^6$	0	0	0	0	0	0	0
37	$343 \cdot 10^6$	0	0	0	0	0	0	0

Die Zahnpasten 19 und 32 waren im Lochtest schwach wirksam, was mit ihrer geringen Aktivität in diesem Test übereinstimmt. Die Zahnpasten 7 und 37, die im Lochplattentest deutlich geringere Hemmhofgrößen als Zahnpasta 9 und 35 zeigten, unterschieden sich in diesem Test nicht mehr, da alle vier Zahnpasten bereits nach einer Minute Einwirkungsdauer das Bakterienwachstum vollständig verhinderten.

Mit der gleichen Methodik wurden zwei weitere Bakterienstämme (Bacillus subtilis und Escherichia coli) untersucht, die sich im Lochplattentest als weniger empfindlich gezeigt hatten.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 2 und 3 zusammengefaßt.

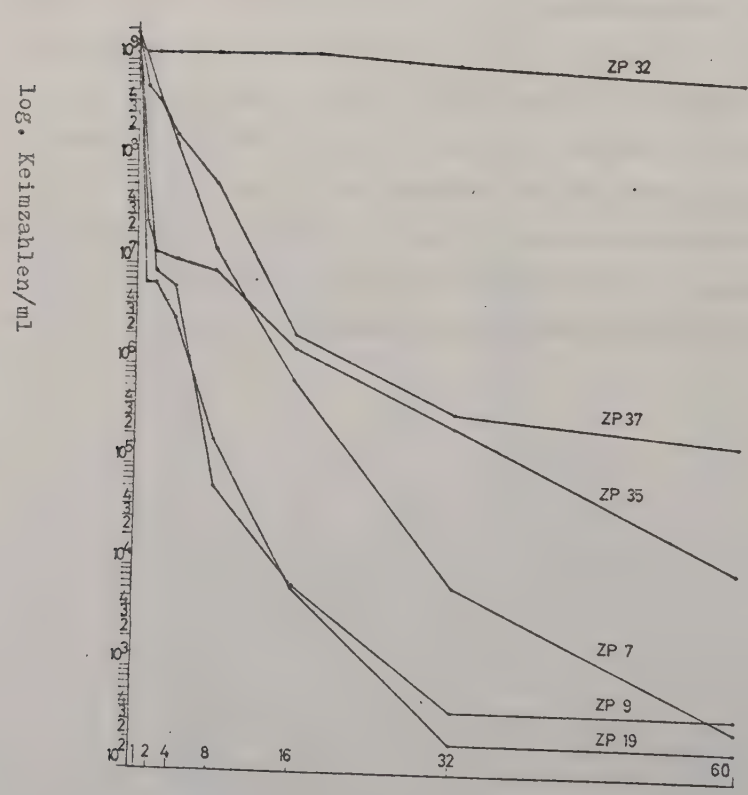
Abbildung 2: Effekt verschiedener Zahnpasten in einer Verdünnung 1 : 10 in Fleischextraktbouillon auf Bacillus subtilis in Abhängigkeit der Zeit



Einwirkungsdauer der einzelnen Zahnpasten in Minuten.

Im Gegensatz zum Effekt auf Neisseria waren bei Bacillus subtilis und Escherichia coli keine der Zahnpasten in der Lage, die Bakterien völlig abzutöten. Nach 60 Minuten lagen noch Keimzahlen von 900/ml (Zahnpasta 37) bis 85 860/ml (Zahnpasta 32) vor. Eine deutliche Verminderung wurde erreicht, da die Anfangskeimzahlen alle im Bereich von $114 \cdot 10^6$ (Zahnpasta 7) bis $276 \cdot 10^6$ Keimen/ml (Zahnpasta 37) lagen. Die hohen Anfangskeimgehalte wurden gewählt, weil die Zahnpasten im Bereich der Zahnzwischenräume ebenfalls auf große Bakterienmengen treffen, die im Gegensatz zum beschriebenen Versuch jedoch verklumpt und dementsprechend schwerer beeinflußbar sind. Mit Ausnahme der Zahnpasta 32 trat bei Bacillus subtilis der größte Effekt der Zahnpasten jedoch schon nach einer Minute auf.

Abbildung 3: Effekt verschiedener Zahnpasten in einer Verdünnung 1 : 10 in Fleischextraktbouillon auf Escherichia coli in Abhängigkeit der Zeit



Einwirkungsdauer der einzelnen Zahnpasten in Minuten.

Eine Abtötung aller Zellen von Escherichia coli wurde auch von im Lochplattentest stark wirksamen Zahnpasten nicht erreicht. Nach der ersten Minute der Einwirkungsdauer der Zahnpasta sanken die Anfangskeimzahlen, die in Bereichen von $1{,}2 \cdot 10^9$ bis $1{,}8 \cdot 10^9$ lagen, nicht in dem Maße ab, wie dies bei Bacillus subtilis der Fall war. Während bei diesem nach einer Minute die Verminderung der Anfangskeimzahlen durchweg im Bereich von vier Zehnerpotenzen lag (Ausnahme Zahnpasta 32), betrugen sie bei Escherichia coli nach einer Minute nur bei den Zahnpasten 9, 19, 35 eine Verringerung der Keime um zwei Zehnerpotenzen, bei den Zahnpasten 7, 32, 37 nicht einmal um eine Zehnerpotenz. Auch hier war die Zahnpasta 32 wieder die mit der geringsten Hemmwirkung. Nach 60 Minuten war allerdings allgemein eine stärkere Keimverminderung als bei Bacillus subtilis festzustellen.

2.5. Untersuchung zur bakteriostatischen oder bakteriziden Eigenschaft von Zahnpasten

In den bisher durchgeführten Versuchen zeigte sich, daß ein Großteil der Zahnpasten das Bakterienwachstum zu beeinflussen vermag. Ob diese Beeinflussung bakteriostatischer oder bakterizider Natur ist, sollte Ziel folgender Untersuchungen sein.

Nach RICHTER (1965) soll zwischen Bakteriostase und Bakterizidie schon beim Lochplattentest unterschieden werden können. Methodisch geht RICHTER dabei so vor, daß aus dem Hemmhof Bakterien entnommen und in giftfreies Medium übertragen werden. Tritt danach Wachstum auf, so kann die Zahnpasta nur bakteriostatisch gewirkt haben. Wir führten mit dieser Methode Untersuchungen durch und erhielten Ergebnisse, die mit später durchgeführten Tests übereinstimmten. Schwierig-

keiten traten jedoch dann auf, wenn bei geringem Hemmhofdurchmesser die Gefahr bestand, Bakterien außerhalb der Hemmhöfe beim Abnehmen mit zu erfassen. Diese Gefahr vergrößerte sich bei 1 : 10 verdünnten Zahnpasten im Lochplattentest.

Wegen der geschilderten methodischen Schwierigkeiten arbeiteten wir zur Klärung dieser Frage bei unverdünnten Zahnpasten mit dem "Keimträgerverfahren" und bei verdünnten Zahnpasten mit der Membranfiltration.

2.5.1. Methodik des Holzstäbchentests

Beim Keimträgerversuch werden die Mikroorganismen über eine deffinierte Zeit mit Mikrobioziden in Verbindung gebracht, anschließend von dem Gift befreit und dafür gesorgt, daß an den Bakterien haftende Giftbestandteile durch "Neutralisationsmittel" inaktiviert werden. Beim entsprechenden Versuchsansatz haben wir uns daher zu Anfang orientiert, ob es "Neutralisationsmittel" (Inaktivatoren) für diejenigen Mikrobiozide gibt, die in Zahnpasten enthalten sind.

2.5.1.1. Suche nach "Neutralisationsmitteln"

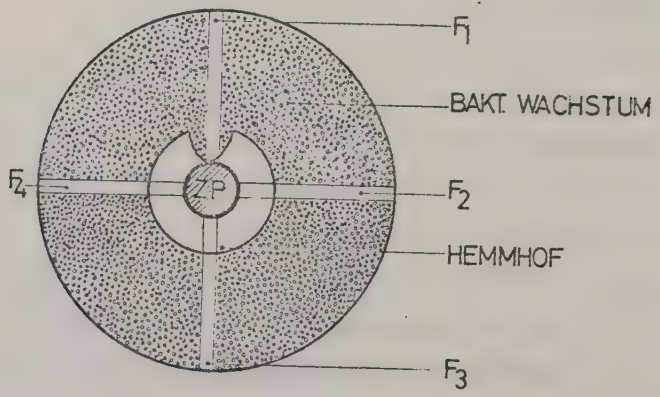
In den Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel (ADAM, 1969), nach SCHMIDT-WALLHÄUSER (1967) und nach KOENIG (1965) sind die gebräuchlichsten Inaktivatoren: TWEEN 80 (1 %), l-Histidin (0,5 %), Lecithin (0,3 %), Na-Thioglykolat (0,1 %), Na-Thiosulfat (0,5 %), Rinderserum (10 %), Cystein-HCL (0,1 %), Lecithin (0,3 %) und TWEEN 80 (3 %) gemischt.

Für die Versuche zur Prüfung der Wirksamkeit der bekannten Inaktivatoren wurden diese mit Ausnahme von Lecithin und dem Lecithin-TWEEN-Gemisch in Leitungswasser gelöst und sterilfiltriert. Die Lecithin enthaltenden "Neutralisations-

mittel" wurden in Abwandlung des von KOENIG angegebenen Verfahrens in den entsprechenden Konzentrationen in Leitungswasser gegeben, mit einem Magnetrührer bis zur Homogenität vermischt und anschließend bei 1 atü autoklaviert.

Die von KOENIG beschriebene Methode zur Prüfung des Blockierungseffektes wurde so verändert, daß Gift und Inaktivatoren nicht mit dem Nährmedium vermischt, sondern mit Testkeimen-Neisseria bzw. Bacillus subtilis- beimpfte Platten, wie beim Lochtest beschrieben, ausgestanzt und die Löcher mit Zahnpasta gefüllt wurden. Danach wurden auf die Platten sterile, ca. 4 mm breite und 14 mm lange Filtrierpapierstreifen, die mit den Inaktivatoren getränkt worden waren, so auf die Platten aufgelegt, daß das eine Ende des Streifens gerade die Lochkante berührte. Vor dem Auflegen wurden die Streifen auf einem sterilen Filtrierpapier abgetupft. Auf einer Platte konnten vier Streifen, die jeweils mit verschiedenen Inaktivatoren getränkt waren, aufgelegt werden. Im Falle einer positiven Wirkung müßte die Hemmzone im Diffusionsbereich des Streifens eingeschnürt sein. (Vgl. Abbildung 4) Sind die Inaktivatoren nutzlos, bilden sich normale Hemmhöfe aus.

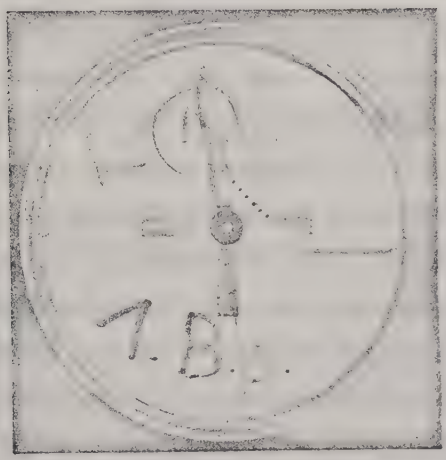
Abbildung 4: Einschnürung des Hemmhofes bei Vorliegen eines wirksamen Inaktivators



Anmerkung: F_1 - F_4: Mit verschiedenen Inaktivatoren getränkte Filtrierpapierstreifen.

Es ist jedoch auch der Fall möglich, daß die Inaktivatoren eine zusätzliche Wachstumshemmung bewirken. Bei den von uns verwendeten Zahnpasten und Inaktivatoren war dies der Fall. (Vgl. Abbildung 5)

Abbildung 5: Durch Inaktivatoren hervorgerufene zusätzliche Wachstumshemmung



Anmerkung: Die punktierte Linie zeigt die Grenze des Bakterienwachstums an.

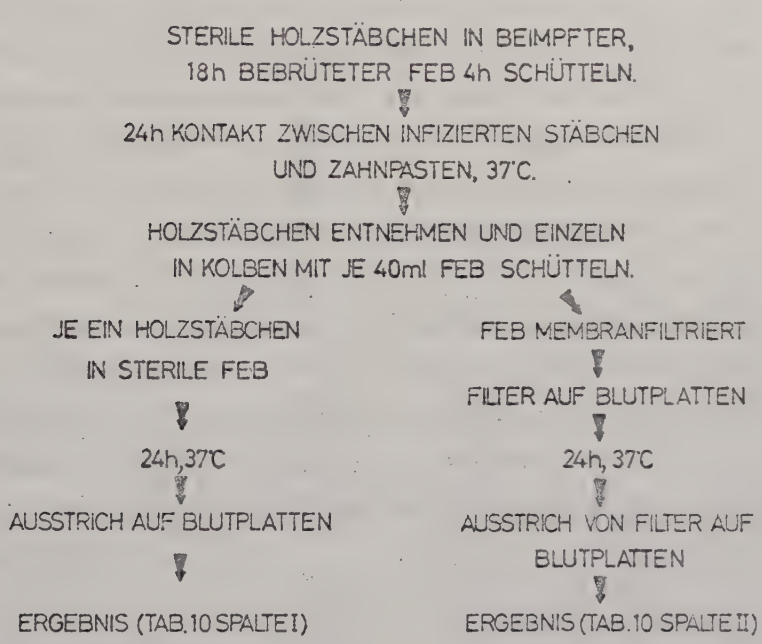
Da sich alle geprüften Inaktivatoren als ungeeignet erwiesen, mußte der Keimträgerversuch ohne "Neutralisationsmittel" durchgeführt werden.

Für den Keimträgerversuch wurden Holzstäbchen von 1 cm Länge in die mit Neisserien beimpfte und bebrütete Fleischextraktbouillon gegeben und bei 37°C drei bis vier Stunden lang geschüttelt. In sterile Petrischalen wurden jeweils 2 cm^3 Zahnpasta gebracht, in die die infizierten Holzstäbchen so eingedrückt wurden, daß sie von der Zahnpasta völlig bedeckt waren. Die so beschickten Petrischalen wurden 24 Stunden bei 37° C bebrütet, die Holzstäbchen anschließend

aus der Zahnpasta genommen und in 40 ml steriler Fleischextraktbouillon 15 Minuten lang zum Abspülen geschüttelt (Spülbouillon). Je ein Holzstäbchen wurde anschließend in 20 ml frische sterile Fleischextraktbouillon gegeben und ebenfalls 24 Stunden bei 37° C unter Schütteln bebrütet. Von dieser Fleischextraktbouillon wurden nach der Bebrütung Ausstriche auf Blutagar gemacht und nach weiteren 24 Stunden Bebrütung auf vorhandenes oder fehlendes Wachstum abgelesen.

Um die Giftwirkung der Zahnpasten in den Subkulturen denhoch auszuschalten, wurde zur Kontrolle der Ergebnisse des Keimträgerversuchs die Spülbouillon membranfiltriert und, um die noch vorliegenden Wirksubstanzen vom Filter zu entfernen, mit sterilem Wasser nachgewaschen. Dadurch kam auch hier schon die Membranfiltermethode zur Anwendung, deren Prinzip darauf beruht, eventuell vorhandene Giftstoffe in der Zahnpasta durch den Filter passieren zu lassen. Auf dem Filter befanden sich jetzt nur noch die überlebenden Keime, die durch Auflegen der Filter auf Blutagar und 24-stündigem Bebrüten in Form von Kolonien sichtbar werden mußten. Da durch Ablagerung unlöslicher Bestandteile der Zahnpasta (Putzkörper) auf der Membran die Bakterien nicht immer einwandfrei zu erkennen waren, wurden jeweils Abstriche auf Blutplatten vorgenommen, 24 Stunden bebrütet und erst dann abgelesen. Den Versuchsablauf zeigt schematisch Abbildung 6. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 10 zu entnehmen.

Abbildung 6: Darstellung der Untersuchung zur bakteriostatischen oder bakteriziden Eigenschaft von unverdünnten Zahnpasten



2.5.1.2. Ergebnisse

Tabelle 10: Test auf bakteriostatische bzw. bakterizide Wirkung der Zahnpasten im Holzstäbchentest mit Neisseria I

Zahnpasta Nr.	Keimträger in Fleischextraktbouillon	Wachstum nach Filtration	Zahnpasta Nr.	Keimträger in Fleischextraktbouillon	Wachstum nach Filtration
1	-	-	24	-	-
2	-	-	25	-	-
3	-	-	26	-	-
4	-	-	27	-	-
5	-	-	28	-	-
6	-	-	29	-	-
7	-	-	30	-	-
8	-	-	31	-	-
9	-	-	32	+	+
10	+ [1]	-	33	+ [1]	-
11	+ [2]	+ [2]	34	+	+
12	-	-	35	-	-
13	-	-	36	-	-
14	-	-	37	-	-
15	-	-	38	+ [2]	+ [2]
16	+ [2]	+ [2]	39	-	-
17	-	-	40	-	-
18	-	-	41	-	-
19	+ [2]	+ [2]	42	-	-
20	-	-	43	-	-
21	+ [1]	-	44	+ [1]	-
22	-	-	45	-	-
23	-	-			

Anmerkung:

+ = Bakteriostase

- = Bakterizidie

1 = wahrscheinlich waren nicht alle Bakterien am Träger abgespült worden

2 = bei den hier gewonnenen Bakterien handelte es sich nicht um Neisserien

2.5.2. Methodik der Membranfiltration

In 45 Erlenmeyerkolben mit jeweils 18 ml Fleischbouillon wurden 0,1 ml einer im Photometer auf 0,35 E Lichtdurchlässigkeit geeichten Bakteriensuspension gegeben und einmal eine Stunde, ein zweites Mal 18 Stunden lang bei 37° C bebrütet. Nach dieser einen Stunde bzw. im zweiten Versuch nach den 18 Stunden wurden in jedem Kolben 2 cm^3 Zahnpasta gegeben (Verdünnung 1 : 10) und 24 Stunden im Brutschüttelschrank gemischt und weiter bebrütet. Nach 24 Stunden wurden aus jedem Kolben 1 ml entnommen und um zwei Zehnerpotenzen verdünnt, wodurch eine bessere Filterpassage möglich wurde. Es wurde membranfiltriert (0,45), mit sterilem Wasser nachgewaschen und die Filter 24 Stunden auf Blutplatten bebrütet, Abstriche auf weitere Blutagarplatten vorgenommen und nach 24 Stunden abgelesen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 zusammengestellt.

2.5.2.1. Ergebnisse

Tabelle 11: Test mit Membranfiltration auf bakteriostatische oder bakterizide Wirkung von 1 : 10 verdünnter Zahnpasta mit Neisseria I und Bacillus subtilis nach 1- bzw. 18-stündiger Vorbebrütung der Kulturen. Einwirkungsdauer der Zahnpasten 24 Stunden.

Zahnpasta Nr.	Vorbebrütung von Neiss. 1h Wachstum nach Zahnpasta-Zugabe	Vorbebrütung von Neiss. 18h Wachstum nach Zahnpasta-Zugabe	Vorbebrütung von B.subt. 1h Wachstum nach Zahnpasta-Zugabe	Vorbebrütung von B.subt. 18h Wachstum nach Zahnpasta-Zugabe
1	-	-	+	+
2	-	-	+	+
3	-	-	+	+
4	-	-	+	+
5	-	+ 1	+	+
6	-	+ 1	+	+
7	-	-	+	+
8	-	-	+	+
9	-	-	-	+
10	-	-	+	+
11	-	-	+	+
12	+ 1	+ 1	+	+
13	-	-	+	+
14	-	-	-	+
15	-	-	+	+
16	+ 1	+ 1	+	+
17	-	-	+	+
18	-	-	+	+
19	-	-	+	+
20	-	-	+	+
21	-	-	+	+
22	-	-	+	+
23	+ 1	+ 1	+	+
24	-	-	+	+
25	-	-	+	+
26	-	+ 1	+	+
27	-	-	+	+
28	-	-	+	+
29	-	-	+	+
30	-	-	+	+
31	+ 1	+ 1	+	+
32	-	+ 1	+	+
33	-	-	+	+
34	+ 1	+ 1	+	+
35	-	-	+	+
36	-	-	+	+
37	-	-	+	+
38	+ 2	+ 2	+	+
39	-	+ 1	+	+
40	-	-	+	+
41	-	-	+	+
42	-	-	+	+
43	+ 1	+ 1	+	+
44	-	-	+	+
45	-	-	+	+

Anmerkung: + = Bakteriostase

- = Bakterizidie

1 = Neisseria

2 = Fremdkeime

Sterilkontrollen der Filter und des Spülwassers zeigten kein Wachstum.

Nach einstündiger Vorbebrütung der Neisserien zeigten außer den Zahnpasten 12, 16, 23, 31, 34, 38 und 43 alle anderen kein Wachstum. Nach 18 Stunden Anbrüten trat bei Zahnpasta 5, 6, 12, 16, 23, 26, 31, 32, 34, 38, 39 und 43 Wachstum auf. Der Unterschied der Ergebnisse bei den Zahnpasten 5, 6, 26 und 39 kann auf das verschiedene Alter der Zellen und auf verschiedene Zellkonzentrationen zurückgeführt werden.

Bei den mit Bacillus subtilis durchgeführten Versuchen waren schon nach einer Stunde Vorbrütung der Keime und anschließender Zahnpastazugabe keine Abtötung festzustellen. Eine Ausnahme stellten Zahnpasta 9 und 14 dar. Nach 18 Stunden Bebrütung allerdings konnte keine der 45 Zahnpasten eine Bakterizidie verursachen. Damit kann also ausgesagt werden, daß ein Großteil der Zahnpasten auf Neisserien bakterizide, einige wenige nur bakteriostatische Wirkung haben. Bacillus subtilis wurde jedoch nicht abgetötet. In unseren Versuchen konnte die Zahnpasta 24 Stunden auf die Bakterien einwirken. Bei der täglichen Mundpflege beträgt die geforderte Putzzeit (SAUERWEIN, 1970; WANNENMACHER, 1968) und somit die Einwirkungszeit der Zahnpasta vier Minuten. Deshalb wurden die vorherigen Versuche mit der gleichen Methodik jedoch mit einer Einwirkungsdauer von vier Minuten durchgeführt. Die Tabelle 12 zeigt die ermittelten Werte.

Tabelle 12: Test auf Bakterizidie oder -stase nach 4' Einwirkungsdauer der Zahnpastaverdünnung 1 : 10 auf Neisserien nach 18-stündiger Vorbebrütung der Kulturen.

Zahnpasta-Nr.	Wachstum	Zahnpasta-Nr.	Wachstum
1	-	25	-
2	-	26	+
3	-	27	-
4	+	28	-
5	+	29	-
6	+	30	+
7	-	31	+
8	+	32	+
9	-	33	-
10	+	34	+
11	+	35	-
12	+	36	-
13	-	37	-
14	-	38	+
15	+	39	+
16	+	40	+
17	-	41	-
18	+	42	-
19	+	43	+
20	-	44	-
21	+	45	-
22	-		
23	+		
24	-		

Anmerkung:

+ = Bakteriostase

-= Bakterizidie

Sterilkontrollen der Filter und des Spülwassers zeigten kein Wachstum.

Nach vier Minuten Einwirkungsdauer zeigten die Zahnpasten 4, 5, 6, 8, 10, 11, 12, 15, 16, 19, 21, 23, 26, 30, 31, 32 34, 38, 39 und 40 erneutes Neisserienwachstum. Alle übrigen Zahnpasten hemmten also schon nach vierminütiger Einwirkung die Neisserienkulturen. Die im bereits durchgeführten Test auf den Effekt der Wirkungsdauer der Zahnpasten ermittelten Werte für die Pasten 7, 9, 19, 32, 35, 37 werden hierdurch bestätigt. Die Prüfung auf Bakterizidie oder -stase mit Bacillus subtilis nach vierminütiger Zahnpastazugabe erübrigte sich, da selbst nach 24 Stunden Einwirkungsdauer keine vollständige Abtötung erfolgt war.

2.6. Untersuchungen zur Frage des Keimgehaltes von Zahnpasten

Bei einigen der vorangegangenen Versuche (siehe Tabelle 10) wurde festgestellt, daß neben den Teststämmen andere Bakterien auftraten, von denen angenommen werden mußte, daß sie von vorneherein in einigen Zahnpasten enthalten waren. Abschließend untersuchten wir daher, ob die Zahnpasten steril waren. In Vorversuchen wurden die Zahnpasten getestet, von denen aus den bisher durchgeführten Versuchsreihen bekannt geworden war, daß sie Bakterien enthielten. Bei weiteren Untersuchungen stellte sich heraus, daß sich auch in solchen Zahnpasten Bakterien befanden, bei denen dieser Befund vorher nicht augenfällig geworden war.

Bei einer ersten Überprüfung wurde etwas Zahnpasta mittels einer Platinöse in Röhrchen mit steriler Fleischextraktbouillon verrührt und sechs Tage bei 37° C in einem roller-tube-Apparat bebrütet. Nach Ausstrich auf Blutplatten wurde nach 24 Stunden abgelesen. An Keimen fanden wir Staphylococcus albus, gram-negative Stäbchen, Keime der Coligruppe, Pseudo-

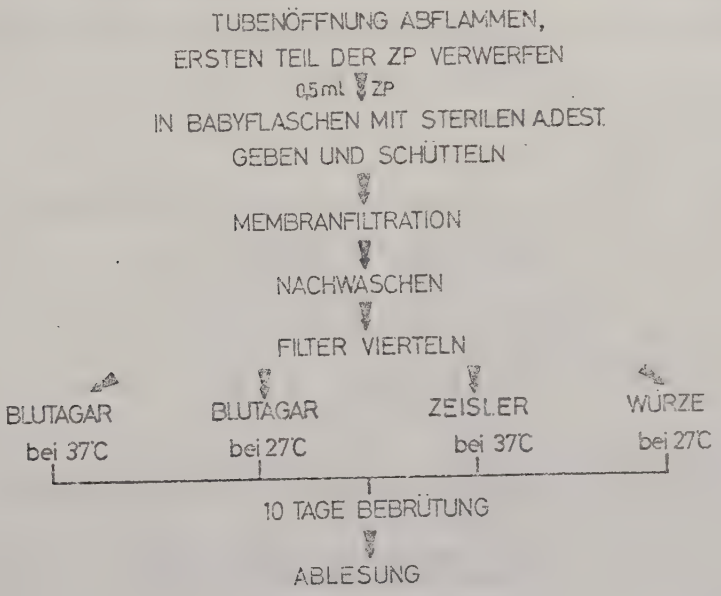
monas und aerobe Sporenbildner. Da bei Wiederholungen in den bisher als keimfrei gehaltenen Zahnpasten auch verschiedentlich Keime gefunden wurden, schien uns diese Art der Prüfung zu ungenau und wir gingen zur Membranfiltration über, die zwar langwieriger, im Ergebnis aber genauer ist.

2.6.1. Methodik

Die Methode der Membranfiltration wurde gewählt, weil in den Zahnpasten vorhandene Bakterien auf dem Filter bleiben und vorhandene Konservierungsmittel auf einfache Weise durch Spülen des Filters entfernt werden können.

Im sterilen Impfkasten bestrahlten wir 45 mit jeweils 100 ml Leitungswasser gefüllte, sterilisierte Babyflaschen zwölf Stunden lang mit UV-Licht. Ebenso wurden die 45 Zahnpastatuben mit UV-Licht bestrahlt. Nach vorherigem Abflammen der unbenutzten Zahnpastatuben verwarfen wir den ersten Teil der austretenden Zahnpasta. Anschließend wurde ca.0,5 cm^3 Zahnpasta in die Babyflaschen gegeben und durch Schütteln suspendiert. Eine wässrige Lösung der Zahnpasten mußte deshalb vorliegen, weil in der darauf folgenden Membranfiltration die unverdünnte Zahnpasta die Filter nicht hätte passieren können. Nach dem Nachwaschen der Filter mit sterilem Wasser schnitten wir diese mit einer sterilen Schere in vier gleiche Teile und legten jeweils ein Viertel auf zwei Blut-, eine Biomalz- und eine Zeislerplatte, die zehn Tage bei 27° C bzw. 37° C bebrütet wurden. Der Versuchsablauf ist in Abbildung 7 schematisch dargestellt.

Abbildung 7: Darstellung des Versuchsablaufs zur Untersuchung des Keimgehaltes von Zahnpasten



Die Auswertung erfolgte nach 10 Tagen (Tabelle 13). Differenziert wurden gram-negative Kokken, gram-positive Kokken, Staphylococcus albus, Staphylococcus aureus, Bacillus, gram-negative Stäbchen, vergrünende Streptokokken, Keime der Coligruppe, Pseudomonas, Flavobakterien, Corynebakterien, Hefen und Sarcinen.

2.6.2. Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in Tabelle 13 zusammengefaßt.

Tabelle 13: In den Zahnpasten gefundene Mikroorganismen

Zahnpasta Nr.[1]	ermittelte Mikroorganismen
1	Bacillus
2	steril
3	steril
4	war nicht mehr im Handel erhältlich
5	gram-negative Kokken
6	gram-negative Stäbchen
7	Staphylokokken
8	Staphylokokken
9	steril
10	Bacillus, Flavobakterium, Pseudomonas, Staphylokokken
11	gram-negative Stäbchen, Staphylococcus albus, Staphylococcus aureus
12	steril
13	steril
14	gram-negative Stäbchen
15	Hefen, Staphylococcus albus, gram-negative Kokken und gram-negative Stäbchen, Pseudomonas
16	Staphylokokken, gram-negative Stäbchen, gram-negative Kokken, Staphylococcus albus
17	Staphylokokken
18	steril
19	Staphylococcus albus, gram-negative Stäbchen
20	steril
21	Staphylokokken, vergrünende Streptokokken, gram-negative Kokken
22	Staphylokokken, gram-negative Stäbchen

Zahnpasta Nr.[1]	ermittelte Mikroorganismen
23	Sarcinen, Staphylokokken
24	gram-negative Stäbchen
25	Staphylokokken
26	Bacillus, Corynebakterien, gram-negative Stäbchen
27	steril
28	Staphylokokken, gram-negative Stäbchen
29	gram-negative Stäbchen
30	gram-negative Stäbchen, Bacillus
31	Staphylococcus albus, Staphylokokken
32	gram-negative Stäbchen
33	Staphylococcus albus, gram-negative Stäbchen, Staphylokokken, gram-positive Kokken
34	steril
35	gram-negative Stäbchen
36	gram-negative Stäbchen
37	Bacillus, Keime der Coligruppe, Staphylococcus albus, gram-negative Stäbchen, Pseudomonas
38	Bacillus
39	gram-negative Stäbchen, Staphylokokken
40	steril
41	steril
42	Bacillus, gram-negative Stäbchen
43	steril
44	steril
45	steril

Anmerkung: 1) Die Nummern der Zahnpasten stimmen nicht mit den in Tabelle 1 und 6 aufgeführten Nummern überein.

Da die Sterilität von Zahnpasten gesetzlich nicht verlangt wird, soll hierdurch vermieden werden, daß eine bakterienhaltige Zahnpasta a priori als schlecht angesehen wird. Außerdem ist zu vermuten, daß der Bakteriengehalt von Charge zu Charge bei ein und derselben Zahnpasta wechseln kann. Weiterhin dürften Abhängigkeiten von der Lagerungsdauer der Zahnpasten bestehen.

3. Diskussion der Ergebnisse

Die Herstellung der Zahnpasten unterliegt nicht dem Arzneimittelgesetz, sondern fällt unter die Richtlinien zur Herstellung kosmetischer Produkte, die wiederum dem Lebensmittelgesetz unterliegen. (HOLTHÖFER und JUNNENACK, 1958) Somit können den Zahnpasten keine hochwirksamen therapeutischen Zusätze zugegeben werden, da diese unter das Arzneimittelgesetz fielen. Von Seiten des Lebensmittelgesetzes bestehen jedoch keine besonderen Vorschriften darüber, welche und in welcher Menge sogenannte Wirkstoffe in Kosmetika enthalten sein dürfen. Es ist lediglich verboten, Kosmetika herzustellen, die bei ihrem Gebrauch die menschliche Gesundheit durch ihre Bestandteile schädigen.

Zahnpasten weisen eine große Mannigfaltigkeit an Zusätzen auf. Neben Putzkörpern, oberflächenaktiven Substanzen, Feuchthaltern (Glyzerin, Sorbit), Bindemittel, Aroma- und Geschmacksstoffen, können die Zahnpasten die verschiedensten Wirkstoffe enthalten. (NEUGEBAUER, 1970) Dabei sind Wirkstoffe mit adstringierender (Myrrhe, Aluminiumverbindungen), reinigender und bakteriostatischer, zahnsteinlösender und kariesshemmender Wirkung zu nennen. Hierbei handelt es sich um Wirkstoffe, die auf Grund von Untersuchungen als vorläufig duldbar angesehen werden können. (HAUSFELDER, 1962) Obwohl viele dieser Stoffe in den verschiedensten Kombinationen von den Zahnpasta-Herstellern ihren Produkten beigegeben werden, und groß angelegte klinische Tests (KIMMEL, 1968; MARTHALER, 1968; MÜHLEMANN, 1967) eindrucksvolle Ergebnisse brachten, zeigte sich die Karies unbeeindruckt davon. Dies mag daran liegen, daß durch die spezifisch wirksamen Substanzen die kausalen Faktoren der Karies nicht genügend beein-

flußt werden. So sind über die Kariesentstehung die verschiedensten Theorien geäußert worden. Hier sei auf die Kariestheorien von GOTTLIEB, 1944; MILLER, 1892; SCHATZ, 1955 verwiesen. Die große Anzahl der Kariestheorien und das ausführliche Schrifttum über die Genesis der Karies allein zeigen schon, daß es heute noch keine allgemeingültige Erklärung für die Ursache der Karies gibt. Jedoch ist dem größten Teil der Kariestheorien gemeinsam, daß bei Entstehung der Karies Bakterien beteiligt sind, was durch die klassischen Versuche von ORLAND, KITE und Mitarbeiter als gesichert angesehen werden kann. FITZGERALD und KEYES (1961) konnten durch Infektion mit bestimmten Bakterien (Streptokokken) Karies an Hamstern erzeugen. Auch weiß man, daß nur die Kombination von Kohlenhydraten und Bakterien Karies erzeugen kann. Somit gibt es für die Kariesprophylaxe durch künstliche Zahnpflege zwei Wege:

a) Die Beseitigung der kohlenhydratreichen Beläge durch mechanische Einwirkung. Nach GÜLZOW (1966) wird bei Verwendung von Zahnpasta die Reinigungszeit durch verstärkten mechanischen Scheuereffekt um ein Drittel verringert. KLIEWE (1936) bestreitet zwar den Effekt der reinen Scheuerwirkung, aber KÜSTER-WEISBACH (1913) erzielte allein durch rein mechanisches Bürsten eine Kariesreduktion von 50 %, ein Wert, der auch bei MATTERN (1964) erwähnt wird. Auch SPITZBART (1951) stellte eine deutliche Keimreduktion fest. Daß die Scheuerwirkung auf dem Keimgehalt der Mundhöhle einen Einfluß hat, zeigen die Untersuchungen von KÖSTERS (1929), die feststellte, daß der Keimgehalt nach Nahrungsaufnahme allein durch den mechanischen Effekt des Kauens deutlich abnimmt.

b) Die Beeinflussung des Bakterienwachstums durch Mikrobiozide in Zahnpasten. KÖSTERS (1930) stellte bei in -vivo-Versuchen zwar fest, daß bei Zahnpasten mit Desinfizientien kein stärkerer Effekt als bei solchen Zahnpasten ohne diese zu erkennen war. Neuere Untersuchungen mit säurebildenden Bakterien von SPITZBART (1951) und MATTERN (1964) zeigen jedoch, daß durch die Mikrobiozide in den Zahnpasten die Keimzahl herabgesetzt wird, und darüber hinaus die Keimverarmung über längere Zeit anhält. Da der "Michigan Bericht" aus den USA besagt, daß durch mechanische Wirkung allein die Karies nicht beseitigt werden kann, könnte antibakteriell wirksamen Stoffen in Zahnpasten karieshemmende Bedeutung zukommen.

Es stellt sich aber die Frage, ob es sinnvoll ist, den Zahnpasten Mikrobiozide beizugeben, da durch ihre Zugabe nur eine geringe weitere Kariesreduktion erreicht wird. So warnt EGGERS LURA (1954) bei übertriebenem Zahnpastagebrauch vor verstärktem Wachstum von Anaerobiern in Retentionsstellen und vor der Hemmung der Enzyme des Speichels. Ein treffender Einwand gegen Zusätze in Zahnpasten findet sich in einer kleinen Notiz der Zahnärztlicher Mitteilungen (1954), in der es heißt, daß der Verbraucher durch die Werbung in einem falschen Sicherheitsgefühl gewiegt wird. Denen gegenüber steht die große Zahl der Befürworter von Wirksubstanzen in den Zahnpasten. KLIEWE (1936.; HOPSTEIN, 1939; PORT EULER, 1951; NOEL, 1952 befürworten antibakterielle Zusätze in Zahnpasten aus prophylaktischen Gründen, vorausgesetzt, daß diese Zusätze keine gewebsschädigende oder sonstige für den Organismus schädliche Substanzen beinhalten. LAMMERS (1953) hält antibakterielle Wirkstoffe in Zahnpasten für angebracht, besonders solche , die imstande sind, nicht nur auf pathogene, sondern auch auf

kariogene Keime und die anaerobe Mundflora bakteriostatisch einzuwirken. Die Gefahr einer dauernden Schädigung der in der Mundhöhle existierenden Flora, d.h. Störung des Gleichgewichtes durch solche Zusätze in Zahnpasten, hält er wegen der nur kurzen Einwirkungsdauer und des geringen Hemmeffektes in geringerer Konzentration für so gut wie ausgeschlossen, denn jedes Mittel schädigt nur so lange die Bakterien, wie es einwirkt. Selbst nach Absetzen von hohen Penicillindosen in Form von Lutschtabletten, durch die die Mundhöhle stark keimarm geworden war, stellte sich nach ein bis zwei Wochen das normale Gleichgewicht wieder her. Auch MATTERN (1964) konnte bei ihren Versuchen feststellen, daß durch Zahnpasta mit Zusätzen keine deutliche nachhaltige Veränderung des individuellen bakteriologischen Speichelbildes bewirkt wurde. Somit können die Befürchtungen einiger Autoren, daß Zahnpastazusätze eine ungünstige Umstellung der Mundflora bedingen könnten, entkräftet werden. So nimmt auch HOLZHAUER (1956) in einem Diskussionsbeitrag Stellung gegen Autoren, die Zahnpasten grundsätzlich ablehnen. Er betont, daß noch nie ein eindeutiger Beweis von Schädigungen durch Zahnpasten erbracht worden sei und hält deshalb Zahnpasten eher für nützlich als schädlich.

Die in-vitro-Prüfung der Zahnpasten geben lediglich Aufschluß darüber, ob Mikrobiozide in den Zahnpasten vorliegen, welche Keimgruppen gehemmt werden, wie stark der antibakterielle Effekt ist und in welcher Zeit er zur Wirkung kommt. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß bei in-vitro-Versuchen das Milieu der Mundhöhle nicht einem Fleischextraktmedium oder ähnlichen Kulturmedien gleichzusetzen ist.

Im Lochtest kann untersucht werden, ob Zahnpasten Mikrobiozide enthalten und gegen welche Mikroorganismen sie wirksam sind. Dieser Test zeigt, daß alle 45 von uns geprüften Zahnpasten einen mikrobioziden Effekt aufweisen. Das Ausmaß der Wirkung ist jedoch durchaus unterschiedlich. Die Hemmhöfe weisen in Abhängigkeit von Zahnpasten und Testorganismen verschiedene Größen auf. Vergleicht man die 45 Zahnpasten untereinander, so ist zu erkennen, daß jede Zahnpasta ihr eigenes "Hemmuster" hat. Um die Wirkung der Zahnpasten schneller vergleichen zu können, wurde für jede Zahnpasta der Mittelwert ihrer Hemmhofgröße errechnet und als Index-Z bezeichnet. Dieser Index stellt ein Maß für das Wirkungsspektrum der einzelnen Zahnpasten dar, ohne jedoch eine Aussage über die elektive Wirkung machen zu können. Es fällt auf, daß drei Zahnpasten, nämlich Zahnpasta 9, 30, 35 hohe Indexwerte aufweisen. So zeigt Zahnpasta 35 den höchsten Index-Z-Wert von 12,8. Bei einem Vergleich mit der Zahnpasta 9 (Index-Z-Wert 11,9) fällt auf, daß die Zahnpasta 35 vier Hemmhofwerte unter zehn mm, Zahnpasta 9 jedoch nur zwei Werte unter 10 mm aufweist. Dieses Ergebnis und die Tatsache, daß der Unterschied zwischen dem größten und kleinsten Hemmhof bei der Zahnpasta 35 19 mm, bei Zahnpasta 9 dagegen 10 mm beträgt, erbringen den Beweis, daß die Zahnpasta 35 elektiver wirkt als die Zahnpasta 9. Bei weiterer Durchsicht des Index-Z fällt auf, daß es sechs Zahnpasten mit dem niedrigen Index bis 1,5 gibt. Diese Zahnpasten (16, 19, 21, 32, 34, 36) zeigen auf die Mehrzahl der Bakterienarten keine hemmende Wirkung. Das Gros der Zahnpasten hat Index-Werte zwischen 2,9 bis 7,2. Diese sind am wenigsten elektiv wirksam, da ihre Hemmhofwerte untereinander keine großen Differenzen zeigen.

Vergleicht man nun die Empfindlichkeit der einzelnen Bakterienarten gegenüber den geprüften Zahnpasten, so fällt auf, daß Pseudomonas, Escherichia coli und Proteus von fast allen Zahnpasten gar nicht gehemmt werden. Der Index-B, der die Empfindlichkeit eines Stammes gegen alle Zahnpasten angibt (Mittelwerte in vertikaler Richtung der Tabelle 4 und 5), verdeutlicht dies auf einfache Weise. Diese drei Stämme weisen einen Index-B-Wert von 0,8 bis 1,0 auf.

Am leichtesten werden die von uns untersuchten Neisserien II mit dem höchsten Index-B-Wert von 10,4 gehemmt. Es folgen in der Reihenfolge der Stämme Nocardia (Index-B-Wert 8,4), Lactobacillus acidophilus (6,9), Neisseria I (6,1), Candida albicans (5,6), vergrünende Streptokokken (5,1), Bacillus subtilis (4,0), Mischflora (3,6), Micrococcus I (3,6), Micrococcus II (3,4), Staphylococcus aureus (3,2), Staphylococcus albus (2,7), Streptococcus lactis (2,5) und A-Streptokokken (2,3). Auffallend ist hier, daß neben den Zahnpasten mit stark hemmender Wirkung einige Zahnpasten mit mittelstark hemmender Wirkung besonders elektiv wirken. So zeigen die Pasten 1 bis 8, 12 bis 15, 20, 23, 27, 33 bis 42 bei Neisseria II noch Werte über zehn mm. Die Zahnpasten 1, 14, 25 und 31 weisen bei Laktobazillen Werte größer als zehn mm auf. Auf die Mischflora wirken nur die Zahnpasten 9, 30 und 35 besonders stark. Bei der Mehrzahl der Bakterienarten bewirken die meisten Zahnpasten mittlere Hemmhofgrößen. Auch Candida albicans mit einem Index-B-Wert von 5,6 macht hier keine Ausnahme.

Bei einem Vergleich der Wirkung zwischen unverdünnter und verdünnter Zahnpasta mit Hilfe des Index-Z fällt auf, daß die Zahnpasten 9 und 30, die in unverdünnter Form den zweit- und drittgrößten Index-Z aufwiesen, in verdünnter Form erst

den dritt- und viertgrößten Index-Z haben. Den zweitgrößten Index hat nun die Zahnpasta 1, die in unverdünnter Form den viertgrößten Index-Z hatte. Zahnpasta 35 hat sowohl in unverdünnter als auch in verdünnter Form den größten Z-Wert.

Die großen Hemmhöfe der verdünnten Zahnpasta 1 dürften durch die Löslichkeit oder Diffundierbarkeit zu erklären sein.

Eine grobe Unterteilung in schwach-, mittel- und starkhemmende Zahnpasten ist auch bei den verdünnten Zahnpasten möglich. Zahnpasta 1 und 35 zählen zu den stark hemmenden, Zahnpasta 15, 16, 19, 21, 32, 34 und 36 zu den schwach hemmenden Pasten.

Wie im Lochplattentest mit unverdünnter Zahnpasta, so lassen sich im Test mit verdünnter Zahnpasta auch Pseudomonas, Escherichia coli und Proteus am schwersten hemmen. Am besten werden durch verdünnte Zahnpasten in der Reihenfolge Nocardia, Neisseria I und Neisseria II gehemmt. Dem gegenüber ist bei unverdünnten Zahnpasten die Reihenfolge Neisseria II, Nocardia, Lactobacillus.

Beim Vergleich mit anderen Arbeiten stellten wir fest, daß die Autoren ähnliche Ergebnisse erhalten haben.
HERBERHOLZ (1956) untersuchte acht Zahnpasten mit zehn Stämmen. Alle acht Zahnpasten und fünf der zehn getesteten Bakterienstämme (Mischkultur, vergrünende Streptokokken, Staphylococcus aureus, Escherichia coli und Proteus) wurden auch in unseren Testreihen verwendet. Ihre Hemmhofgrößen zeigen annähernd gleiche Werte wie die unsrigen.
RICHTER (1965) testete vier bei uns nicht erhältliche Zahnpasten gegen Staphylococcus aureus, hämolysierende Streptokokken, vergrünende Streptokokken, Enterokokken und Sarcinen.

Zwischen seinen und unseren Ergebnissen sind größenordnungsmäßig keine Unterschiede festzustellen.
THUR (1952), der bei seinem Lochtest zwölf Zahnpasten mit Staphylococcus aureus und Bact. acidi lactis untersuchte, fand hier durchweg eine Wirkung seiner Zahnpasten gegenüber den Bakterien. Bildet man den Mittelwert der von ihm gefundenen Hemmhofgrößen, der mit unserem Index-B vergleichbar ist, so ergibt sich für die Prüfung auf Staphylococcus aureus ein Index von 15,1; für Bact. acidi lactis von 6,0.

Staphylococcus aureus wurde also wesentlich stärker gehemmt als bei uns. Ein Vergleich mit unseren Ergebnissen kann jedoch nicht vorgenommen werden, da er andere nicht angegebene Zahnpasten untersuchte.

Wir haben an anderer Stelle schon erwähnt, daß die Zahnpasten, wie aus dem Lochtest ersichtlich wird, eine elektive Wirkung haben. Soll diese Elektivität auf die Bakterien sinnvoll sein, so darf sie nicht wahllos erfolgen, sondern müßte unter Berücksichtigung der heutigen Kariesforschung die Laktobazillen und anderen säurebildenden Bakterien hemmen.

Nach LAMMERS (1953) sind für die Mundhygiene solche antibakteriellen Wirkstoffe in Zahnpasten wertvoll, die in hohen Verdünnungen auf die kariogene und anaerobe Mundflora bakteriostatisch einwirken können. Er stellte fest, daß im Speichelbild Mundgesunder ein Gleichgewicht zwischen "Gärungs-" und "Fäulnisbakterien" herrscht. Bei Kariesfloriden ist dieses Gleichgewicht zugunsten der "acidotoleranten" Keimgruppen verschoben, bei Zahnfleischentzündungen dagegen herrschen "proteolytische" Keime vor. Ferner fand er, daß zwischen einzelnen Keimgruppen Synergismen oder Antagonismen bestehen. So

ließ sich ein Antagonismus zwischen Streptokokken (Streptococcus lactis) und Staphylokokken oder zwischen acidophilen Bakterien und Staphylokokken dergestalt nachweisen, daß die Streptokokken des Mundes Inhibine bilden, die das Wachstum von "proteolytischen" Keimen hemmen. (HERMANN, 1960; KRASSE, 1956) Hier liegt ein Antagonismus von "proteolytischen" und säurebildenden Keimen vor. Eine elektive Schädigung eines Antagonisten zieht ein stärkeres Wachstum des Gegenspielers nach sich. So bedingt z.B. eine Keimreduktion der Milchsäurebakterien ein verstärktes Wachstum der "proteolytischen" Keime und umgekehrt.

Außerdem gibt es einen Synergismus zwischen Candida albicans und Laktobazillen. Bakterien, die sich in einem Synergismus zueinander befinden, können dann geschädigt werden, wenn nur einer der Synergisten elektiv angegriffen wird. So werden durch Abtötung von Candida albicans die Wachstumsbedingungen für Milchsäurebakterien verschlechtert.

Nach WOHINZ sollen darüber hinaus die Hefezellen auch deshalb geschädigt werden, da sie auf Grund ihres hohen Phosphatgehaltes bei Fermentprozessen eine Rolle spielen und zahnschmelzschädigende Zwischenprodukte bilden.

Für den Zusatz von antibakteriellen Mitteln ist dies insofern von Bedeutung, als Zahnpasten, die gegen Schleimhauterkrankungen wirksam sein sollen, in erster Linie die "proteolytischen" Keimgruppen schädigen müssen. Zahnpasten, die eine Kariesreduktion herbeiführen sollen, müssen vor allem säurebildende Keime wie Streptokokken und Laktobazillen, sowie deren Synergisten, nämlich Hefen z.B. der Gattung Candida elektiv angreifen, die "proteolytischen" Keime jedoch weitgehend unbeeinflußt lassen. Wünschenswert

wäre weiterhin eine Schädigung der sonstigen pathogenen Mikroorganismen.

Betrachtet man in der Tabelle 4 den Index-B, so erkennt man, daß das Gros der Zahnpasten auf Staphylococcus aureus (Index-B-Wert 3,2), Staphylococcus albus (Index-B 2,7), Escherichia coli (0,8) und Proteus (0,9) eine geringere Wirkung zeigen als auf vergrünende Streptokokken (Index-B-Wert 5,1), Laktobazillen (6,9) und Candida albicans (5,6). Lediglich Streptococcus lactis liegt mit seinem Index-B-Wert von 2,5 tiefer und wird weniger gut gehemmt als die "proteolytischen" Keime.

Es wird deutlich, daß der Durchschnitt der Zahnpasten säurebildende Bakterien besser hemmt als "proteolytische" Keime. Da nicht alle Zahnpasten im einzelnen besprochen werden können, sollen die Zahnpasten 9 und 35 (stark hemmende Zahnpasten), 7 und 37 (mittelmäßig hemmend), 19 und 32 (schwach hemmend) und die Pasten, die besonders auffallende Wirkung zeigen, durch die Tabelle 14 erläutert werden. Besonders auffallende Zahnpasten sind 1, 14, 25 und 31.

Die Tabelle 14 (Seite 57) erlaubt einen übersichtlichen Vergleich der Wirkung dieser Zahnpasten auf "Säurebildner", "Proteolyten" und Candida albicans.

Tab.14: Vergleich der Wirkung einiger unverd.Zahnpasten auf "Säurebildner","Proteolyten", Hefen

Zahnpasta Nr.	"SÄUREBILDNER"			"PROTEOLYTEN"				HEFEN
	vergrün. Strept.	Laktobazillen	Streptococc. lactis	Staphyl. aureus .	Staphyl. albus	E. coli	Proteus	Cand. albicans
9 stark hemmend	14	13	10	15	11	7	10	10
35 stark hemmend	15	23	9	7	14	11	6	16
7 mittelstark	4	6	2	3	2	0	0	5
37 mittelstark	4	7	2	3	2	0	1	6
19 schwach hemmend	0	0	0	0	0	0	0	2
32 schwach hemmend	2	0	0	0	0	0	0	0
sonstige								
1	12	12	6	5	6	4	6	8
14	2	15	1	1	1	3	0	1
25	7	11	2	5	3	0	0	3
31	6	16	4	5	4	3	2	9

Anmerkung: Die Zahlenwerte geben die Hemmhofgrößen in mm an.

Zahnpasta 9 tötet alle Keime gleich stark ab.

Zahnpasta 35 hemmt die "Säurebildner" und Candida albicans deutlich stärker als "Proteolyten".

Zahnpasta 7 zeigt auf säurebildende Bakterien und bei Candida albicans ein etwas besseres Ergebnis als auf "proteolytische" Keime.

Zahnpasta 37 wirkt auf die säurebildenden Stämme ebenfalls stärker ein als auf "Proteolyten".

Zahnpasta 19 hat bei Candida albicans einen hemmenden Effekt, während sie bei den "Säurebildnern" und "Proteolyten" in ihrer Wirkung versagt.

Zahnpasta 32 wirkt nur auf vergrünende Streptokokken. Die anderen säurebildenden und "proteolytischen" Keime bleiben unbeeinflußt.

Zahnpasta 1 ergibt bei vergrünenden Streptokokken, Laktobazillen und Candida albicans besonders hohe Hemmhofwerte.

Zahnpasta 14 und 25 schädigen in elektiver Weise Laktobazillen.

Zahnpasta 31 greift besonders Laktobazillen und Hefen an.

Damit wird die von LAMMERS (1953) gestellte Forderung, daß von karieshemmenden Zahnpasten die "Säurebildner" und Hefen abgetötet, die "Proteolyten" jedoch weniger beeinflußt werden sollen, besonders von den Zahnpasten 35 und 1 erfüllt. Zahnpasta 9, 19 und 32 werden dieser Forderung am wenigsten gerecht. Hier sei jedoch nochmals darauf hingewiesen, daß diese Ergebnisse sich aus in-vitro-Versuchen ergaben, in denen sich z.B. Synergismen zwischen "Säure-

bildnern" und Hefen nicht auswirken.

Da im Munde die Zahnpasten durch Speichel verdünnt werden, sind auch die Werte der 1 : 10 verdünnten Zahnpasten von Interesse. Auch hier ist der Index-B-Wert für Staphylococcus aureus (0,7), Staphylococcus albus (0,4), Escherichia coli (0,1) und Proteus (0,04) deutlich niedriger als für vergrünende Streptokokken (2,1), Laktobazillen (1,8) und Streptococcus lactis (0,7).

Von der 1 : 10 Verdünnung der Zahnpasten werden säurebildende Mikroorganismen ebenfalls besser als "Proteolyten" gehemmt. (Tabelle 15, Seite 60)

Es wird deutlich, daß Zahnpasta 9, 35 und 7 "Säurebildner" stärker angreifen als "Proteolyten". Zahnpasta 37 zeigt ein ausgewogenes Verhältnis in der Wirkung auf "Säurebildner" und "proteolytische" Bakterien. Zahnpasta 19 und 32 haben in der Verdünnung bei keinem der Stämme einen mikrobioziden Effekt.

Zahnpasta 1, 14, 25 und 39 wirken besonders gut auf Laktobazillen.

Die Unterteilung der Mundflora in "proteolytische" und säurebildende Mikroorganismen ist bezüglich der Auswahl der zu den einzelnen Gruppen gehörenden Bakterien etwas schwierig, da sich z.B. aus der Literatur nicht eindeutig klären läßt, zu welcher Gruppe die Neisserien gehören, die im Munde sehr häufig gefunden werden. Außerdem ist nicht gesagt, daß "proteolytische" Bakterien eine pathogene Wirkung haben müssen.

Tab.15: Vergleich der Wirkung einiger 1:10 verd. Zahnpasten auf "Säurebildner", "Proteolyten", Hefen

Zahnpasta Nr.	"SÄUREBILDNER"			"PROTEOLYTEN"				HEFEN
	vergrün. Strept.	Laktobezillen	Streptococc. lactis	Staphyl. aureus	Staphyl. albus	E. coli	Proteus	Cand. albicans
9. stark hemmend	4	4	0	1	1	1	0	2
35 stark hemmend	13	3	7	3	11	5	1	6
7 mittelstark	2	3	0	1	0	0	0	2
37 mittelstark	2	1	1	1	0	0	0	1
19 schwach hemmend	0	0	0	0	0	0	0	0
32 schwach hemmend	0	0	0	0	0	0	0	0
sonstige								
1	4	7	3	3	3	0	1	5
14	2	7	0	2	0	0	0	0
25	0	5	1	0	0	0	0	1
39	2	5	1	3	0	0	0	1

Der Test auf die minimale Hemmkonzentration (MHK) in flüssigen Medien erlaubt die Aussage, bis zu welcher Konzentration eine Zahnpasta noch antibakteriell wirksam ist. Wie im Lochtest werden Neisserien besser abgetötet als Bacillus subtilis. Eine direkte Übertragung der Ergebnisse aus der Bestimmung der MHK auf die Ergebnisse des Lochplattentests ist ohne weiteres nicht möglich, da bei ihrer Bestimmung der Effekt verschiedener Diffusionsgeschwindigkeiten im Agar nicht mehr auftritt.

So hat die im Lochtest schwächere Zahnpasta 7 die gleiche MHK wie die Paste 35. Zahnpasta 37, eine ebenfalls im Lochtest deutlich schwächere Zahnpasta als Paste 35, wirkt bei der MHK noch bei einer Verdünnung von 1 : 1280 und ist somit von den sechs Zahnpasten die Paste, die bei stärkster Verdünnung noch antibakteriell wirksam ist.

Geht man davon aus, daß in der ersten Minute nach dem Zähneputzen und dreimaligem anschließendem Spülen mit je 25 ml Wasser keine höhere Verdünnung als 1 : 100 auftritt, lassen unsere Werte den Schluß zu, daß vier der sechs untersuchten Zahnpasten im Munde längere Zeit wirksam sein dürften. Unberücksichtigt bleibt bei dieser Betrachtung die Möglichkeit, daß Zahnpastabestandteile in der oberflächlichen organischen Substanz des Zahnes und des Zahnfleisches haften bleiben.

Für die bakterienhemmende Wirkung einer Zahnpasta im Munde spielt neben der Konzentration des Mikrobiozids seine Einwirkungsdauer auf die Bakterien in den Zahnzwischenräumen und im Mund eine Rolle.

Die von uns untersuchten schwach wirksamen Zahnpasten (19,

32) haben auf Neisseria nach 1 Minute Einwirkungszeit keinen deutlichen Effekt. So werden von Zahnpasta 32 $562 \cdot 10^6$ Keime/ml nach 1 Minute nur auf $117 \cdot 10^6$ Bakterien/ml verringert; nach 60 Minuten liegen immer noch $2 \cdot 10^4$ Mikroorganismen/ml vor. Ähnliche Verhältnisse liegen bei Zahnpasta 7 vor. (Vergl. Tabelle 9, Seite 25) Die mittel- wie auch die stark biociden Zahnpasten töten die Neisserien schon nach 1 Minute Wirkungszeit ab.

Die Keimzahlen von Bacillus subtilis werden von der schwach hemmenden Zahnpasta 32 nach 1 min nicht einmal um eine Zehnerpotenz erniedrigt, nach 60 min ist jedoch eine Keimverminderung von drei Zehnerpotenzen zu erkennen. Zahnpasta 37 verringert in der ersten Minute die Anfangskeimzahl um fast fünf Zehnerpotenzen, nach 60 min um etwas mehr als fünf Zehnerpotenzen. Die übrigen Zahnpasten (7, 9, 19, 35) reduzieren auch schon in der ersten Minute die Keimzahlen um vier Zehnerpotenzen, zeigen aber nach 60 min nur geringere weitere Effekte.

Bei Escherichia coli senkt Zahnpasta 32 in der ersten bis sechzigsten Minute die Keimzahlen nicht um eine Zehnerpotenz. Die Keimreduktion bei den Zahnpasten 7, 9 und 19 beträgt nach 60 min sieben Zehnerpotenzen, wobei Zahnpasta 19 nach der ersten Minute die Werte schon um drei Zehnerpotenzen verringert. Zahnpasta 7 und 9 bewirken nach der ersten Minute keine nennenswerte Keimverminderung. Bei Zahnpasta 35 sinken die Keimzahlen nach der ersten Minute um zwei Zehnerpotenzen und nach 60 min um fünf Zehnerpotenzen, bei Zahnpasta 37 nach 1 min um eine Zehnerpotenz, nach 60 min um vier Zehnerpotenzen.

Sowohl bei der Untersuchung der Inaktivierungsdauer als auch beim Lochtest wird durch Vergleich der Ergebnisse deutlich, daß bei Neisseria die Zahnpasten 19 und 32 die geringste Biozidwirkung haben. Bei den übrigen Zahnpasten läßt sich die Unterscheidung in mittel- und stark hemmende nicht mehr treffen, da beim Test der Inaktivierungsdauer die Zahnpasten 7, 9, 35 und 37 schon nach 1 min alle Mikroorganismen abtöten.

Bei der Untersuchung der Inaktivierungsdauer mit Bacillus subtilis ist die Zahnpasta 37 am stärksten wirksam, während dies beim Lochtest Zahnpasta 35 war. Zahnpasta 32 hat bei beiden Tests die schwächste Wirkung. Zahnpasta 19, die im Lochtest einen geringen Effekt hatte, zeigt nun die gleichen Ergebnisse wie die Zahnpasten 7 , 9 und 35.

Bei Escherichia coli tritt der Unterschied der Ergebnisse zwischen Lochtest und der Untersuchung der Inaktivierungsdauer am stärksten in Erscheinung. Die im Lochtest schwach hemmende Zahnpasta 19 und mittelstark wirkende Zahnpasta 7 sind hier am stärksten abtötend. Bei der stark hemmenden Paste 9 hat sich die Relation nicht verschoben. Zahnpasta 37 (mittelstark) und Paste 35 (stark) liegen beide im Mittelfeld. Zahnpasta 32 zeigt bei beiden Tests kaum eine Wirkung auf Bakterien.

Unsere Untersuchungen bestätigen die Angaben von RÖTTGER (1955) und MAIER (1956), die mit anderen Methoden eine Keimreduktion innerhalb von 2,5 bzw. 5 min ermittelten. Wir können diese Aussage bei unseren geprüften Zahnpasten insofern erweitern, daß sie auch schon nach 1 min Einwirkungszeit eine Keimverminderung bewirken.

Abschließend soll eine Wertung zwischen Lochtest und

dem Test der Inaktivierungsdauer gegeben werden.

Die Ergebnisse des Lochtests zeigen, ob und wie stark Zahnpasten das Bakterienwachstum beeinflussen. Der Test der Inaktivierungsdauer gestattet darüber hinaus die Aussage, in welcher Zeit und in welcher Zahl die Keime abgetötet werden. Die Ergebnisse sind aber im Gegensatz zum Lochtest nicht nur qualitativer sondern auch quantitativer Natur. Während im Lochtest nicht zu erkennen ist, ob die Zahnpasten bakterizid oder -statisch gewirkt haben, läßt sich diese Unterscheidung im Test der Inaktivierungsdauer sehr wohl treffen. Beim Lochtest arbeitet man mit festen Medien, bei der Inaktivierungsdauer mit flüssigen Medien. Da die Mikrobiozide offenbar unterschiedliche Diffusionsfähigkeiten besitzen, lassen sich die Ergebnisse beider Untersuchungsformen nicht ohne weiteres vergleichen, sondern führen zu einer gegenseitigen Ergänzung.

Sofern in -vitro-Prüfungen der mikrobioziden Eigenschaften bei Neuentwicklungen von Zahnpasten dem Hersteller sinnvoll erscheinen, sollte mit dem Lochplattentest auch eine Untersuchung der Inaktivierungsdauer verbunden sein. Es soll jedoch vermerkt werden, daß die bei in-vitro-Testen ermittelten Ergebnisse nicht ohne weiteres auf in-vivo-Ergebnisse übertragen werden können. Es handelt sich also bei in-vitro-Testen um Vorprüfungen, die Wirkstoffkombinationen ermitteln sollen, von denen auch in vivo positive Ergebnisse zu erwarten sind.

Die Untersuchung auf bakteriostatische und bakterizide Eigenschaft von Zahnpasten wurde mit zwei Stämmen (Neisseria I, im Lochtest leicht hemmbar) und Bacillus subtilis (weniger

empfindlich) durchgeführt. Bei Neisseria I kamen bei unverdünnten Zahnpasten zwei Prüfungsmethoden zur Anwendung (vergl. Seite 34). Beide Methoden (vergl. Tabelle 10, Seite35) führten mit einigen Ausnahmen zu den gleichen Ergebnissen.

So zeigen die Zahnpasten 10, 21, 33 und 44 beim Keimträgerversuch Bakteriostase, während nach dem Filtrationsversuch Bakterizidie vorzuliegen schien. Der Unterschied kann durch das Vorliegen von "Retentionsstellen" in den Holzstäbchen erklärt werden, in denen die Bakterien für die Zahnpasten nicht zugänglich waren, daher nicht abgetötet wurden und durch erneutes Spülen in Fleischextraktbouillon freigesetzt wurden. Bei einigen Zahnpasten (11, 16, 19, 38), bei denen nach der Methodik Bakteriostase festgestellt wurde, ergab eine Überprüfung der gewachsenen Mikroorganismen, daß es sich nicht um den Testkeim Neisseria, sondern um andere Mikroorganismen handelte, die in jedem Fall aus der nicht sterilen Zahnpasta stammten. (vergl. hierzu die Untersuchungen auf Sterilität, Tabelle 13, Seite 44 und Seite 69)

Bei weiterer Durchsicht der Tabelle wird ersichtlich, daß der Großteil der Zahnpasten bakterizide Wirkung gegen Neisseria hat. Lediglich Paste 32 und 34 wirken bakteriostatisch.

Bakteriostase und Bakterizidie eines Giftes ist nicht nur von der Einwirkungsdauer sondern auch von seiner Konzentration und der Wachstumsphase der Bakterien abhängig. Deshalb ließen wir auch 1 : 10 verdünnte Zahnpasten 24 Stunden lang sowohl auf 18 Stunden als auch auf 1 Stunde alte Mikroorganismen einwirken.

Bei 18 Stunden alte Neisserien zeigt der Großteil der Pasten bakterizide Wirkung gegen Neisseria. Bakteriostatisch

sind Zahnpasta 5, 6, 12, 16, 23, 26, 31, 32, 34, 39, 43. (Tabelle 11, Seite 38)

Neisserien nach 1 Stunde Vorbebrütung erbrachten andere Werte (Tabelle 11, Seite 38). Es zeigt sich, daß die Zahnpasten 5, 6, 26, 32 und 39, die bei 18 Stunden vorbebrüteten Neisserien nur bakteriostatisch gewirkt hatten, bei den 1 Stunde alten Zellen bakterizid wirken. Zahnpasta 12, 16, 23, 31, 34 und 43 haben nur bakteriostatische Wirkung.

Verändert man die Einwirkungsdauer und läßt die Zahnpasten nur 4 min (empfohlene Zahnputzzeit) auf 18 Stunden alte Neisserienkulturen einwirken (Tabelle 12, Seite) und vergleicht die Ergebnisse mit den Werten der Tabelle 10 (24-stündige Einwirkungsdauer der Pasten auf Neisseria), so erkennt man, daß nach 4 min die Zahnpasten 4, 8, 10, 11, 15, 18, 19, 21, 30 und 40 nur bakteriostatisch wirken. Nach 24-stündigem Kontakt mit Bakterien waren sie bakterizid gewesen.

Bei Bacillus subtilis untersuchten wir die Einwirkung von 1 : 10 verdünnten Zahnpasten über 24 Stunden auf 1 Stunden alte Zellen und fanden nur bei den Zahnpasten 9 und 14 einen bakteriziden Effekt. Alle übrigen Zahnpasten wirkten bakteriostatisch. 18 Stunden alte Zellen von Bacillus subtilis konnten durch alle Zahnpasten nur bakteriostatisch beeinflußt werden.

RICHTER (1965) stellte ähnliche Versuche an. Er arbeitete auch mit dem Keimträgerversuch und fand, daß keine der von ihm getesteten Zahnpasten bakterizide Eigenschaften gegenüber Staphylococcus aureus, Enterokokken, hämolysierende Streptokokken, vergrünende Streptokokken und Sarcinen hatte. Seine Untersuchungen können wir durch unsere Versuche mit 45 Zahnpasten für Bacillus subtilis erweitern.

RÖTTGER (1965), die ebenfalls Untersuchungen zur bakteriostatischen oder bakteriziden Eigenschaft von Zahnpasten durchführte, stellte mit einer anderen Methodik (0,05 cm^3 einer in 1 ml physiologischen Kochsalzlösung suspendierte Kultur wurde mit 1 cm^3 Zahnpastaaufschwemmung vermischt und nach 1', 5', 60' und 24 Stunden in 10 ml Fleischextraktbouillon verdünnt, ausgestrichen und abgelesen) nach 24 Stunden Bakterizidie auch bei Escherichia coli fest. Da sie andere Zahnpasten und Stammkombinationen verwendete, ist ein Vergleich nicht möglich. Die drei von ihr getesteten Zahnpasten wirkten nach 24 Stunden bis auf das "Bakterium pyocyaneum" auf alle anderen Stämme bakterizid.

KNAP (zit. nach KÖSTERS, 1929) vermutete, daß die Pasten keimhaltig seien, da Wachstum von Fremdkeimen in der Nachbarschaft von Zahnpasten auftrat, die auf mit Mundkeimen bedeckte Serum-Agar-Platten gegeben worden waren. Durch einen weiteren Versuch wurde dieser Verdacht bestätigt.

HAUSFELDER (1962) untersuchte Zahnpasten auf ihren Bakteriengehalt und fand mit einem Suspensionsverfahren (0,35 g Zahnpasta wurden mit 10 ml Kochsalzlösung aufgeschwemmt und davon 0,1; 0,5 und 1 cm^3 mit Nähragar auf Zählplatten vermischt und ausgezählt), daß drei von 17 Pasten bakterienhaltig waren. Gefunden wurden Staphylococcus albus, Keime der Coligruppe und Bacillus subtilis.

Da auch wir Fremdkeime in den Zahnpasten vermuteten (vergl. Seite 19und Seite 36) untersuchten wir, ob Zahnpasten keimhaltig sind. Die Prüfung auf Sterilität bei Substanzen, die antimikrobielle Wirkstoffe enthalten, ist ähnlich durchzuführen wie die Prüfung auf Bakterizidie und

Bakteriostase. Es gilt zu vermeiden, daß das Mikrobiozid in den Nährmedien für die gesuchten Mikroorganismen gelangt. Bei unseren Untersuchungen wurde deshalb die Membranfiltration (vergl. Seite 42) angewendet. Wir konnten bei 30 der 45 Zahnpasten Bakterien kultivieren, die in Tabelle 13, Seite 44 aufgeführt wurden.

Bei der heutzutage im modernen Stil durchgeführten mechanisierten Herstellung von Zahnpasten sollte man davon ausgehen, daß Mikroorganismen fast ausschließlich durch die Rohprodukte bzw. nicht abgedeckte Behälter in die Zahnpasten gelangen und daher fordern, daß Kosmetika, die in den Mund gelangen, nicht mit den Händen der an der Herstellung beteiligten Personen in Berührung kommen. Dies ist jedoch nicht immer der Fall. Bei Besichtigung eines zahnpastaherstellenden Betriebes fiel uns auf, wie z.B. eine Arbeiterin die hinten offenen Tuben über die Finger stülpte und in eine automatische Tubenabfüllmaschine einlegte, da deren Greifer, mit dem die Zahnpastatuben sonst aufgenommen und eingelegt werden, defekt war. Des weiteren lagen die Tuben offen in Kisten, so daß deren Sterilität von vorneherein nicht gesichert war. Ob und wie die Greifer der Maschine, die sonst in die geöffneten Tuben fassen, desinfiziert werden, ist nicht bekannt.

Es stellt sich als erste Frage, ob Bakterien in der fertigen Zahnpasta nur überleben oder ob sie sich auch darin vermehren können. Von der Zusammensetzung einer Zahnpasta hergesehen gibt es genügend Substanzen, die als solche eine Vermehrung bewirken. (Bindemittel wie Alginate und Tragant, Feuchthaltemittel wie Glyzerin und Sorbitol sowie ätherische Öle)

Besonders Alginate, Tragant und andere organische Natur-

produkte liegen nicht chemisch rein vor, sondern enthalten noch zusätzliche organische Beimengungen, die ebenfalls für ein Bakterienwachstum ausreichend sind.

Während Verunreinigungen von Zahnpasten mit Bakterien durch das beschäftigte Personal mittels innerbetrieblicher Maßnahmen ausgeschlossen werden könnten, sind Verunreinigungen durch die Naturprodukte nur schwer zu vermeiden. Der Zahnpastahersteller ist daher auf die Anwendung von Konservierungsmitteln (z.B. Hexachlorophen, Chlorhexidin, Tyrothricin, quaternäre Ammoniumverbindungen) angewiesen, um zu verhindern, daß Zahnpasten "schlecht" werden, wenn sie über längere, nicht bekannte Zeit lagern müssen. HAUSFELDER (1962) erwähnt, daß es beim Lagern der Zahnpasten zu einer starken Verminderung der Keimzahl oder je nach Stärke des Konservierungsmittels auch zu keimfreien Pasten kommen kann. Dies muß jedoch nicht der Fall sein, da durch Selektion und Adaptation das Konservierungsmittel seine Wirksamkeit verlieren kann.

Die Durchsicht der von uns in Zahnpasten gefundenen Bakterienarten ergibt, daß bezüglich ihrer Herkunft Escherichia coli, Proteus, Staphylococcus aureus und vielleicht auch Pseudomonas durch den Herstellungsbetrieb (Luftkeimgehalt bzw. Personal) in die Zahnpasten gelangt sind. Die Mehrzahl der anderen Bakterienarten dürfte bereits in Rohprodukten enthalten sein. Hieraus ergibt sich, daß wie bereits betont, die Herstellung so angelegt werden müßte, daß zumindest Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa und coliforme Keime von Zahnpasten ferngehalten werden. Die üblich hygienischen Maßnahmen dürften hierfür ausreichen. Es ist außerdem ratsam, die Effektivität der Konservierungsstoffe an den Bakterien-

arten zu testen, die bei der Produktion oder durch die Rohprodukte in die Zahnpasten gelangen und sich in ihnen auch vermehren.

4. Zusammenfassung

4.1. 45 Zahnpasten wurden mit verschiedenen Methoden auf ihre Wirkung gegenüber 16 Bakterienstämmen und einer Hefeart untersucht.

4.2. In Lochplattentesten wurde gefunden, daß alle Zahnpasten die Vermehrung von Testorganismen hemmen, daß jedoch die Hemmung von der Sorte der Zahnpasta und den untersuchten Bakterienstämmen abhängig ist. Untersucht wurde konzentrierte und 1 : 10 verdünnte Zahnpasta.

4.3. Auf Grund ihrer Wirkung auf die Bakterien konnten die Zahnpasten in stark-, mittelstark- und schwach hemmende eingeteilt werden. Jede Zahnpasta hatte ihr eigenes "Hemmuster". Es war festzustellen, daß einige Zahnpasten elektiv wirkten. Die meisten Zahnpasten töteten "Säurebildner" und Hefen stärker ab als "proteolytische" Keime. Bei 1 : 10 verdünnten Zahnpasten war dies auch der Fall.

Pseudomonas, Escherichia coli und Proteus erwiesen sich gegen fast alle unverdünnten Zahnpasten als besonders resistent. Am leichtesten waren Neisserien und Laktobazillen zu hemmen. Bei 1 : 10 verdünnten Zahnpasten lagen die Ergebnisse in gleicher Relation.

4.4. Untersuchungen über die minimalen Hemmkonzentrationen

(MHK) an sechs Zahnpasten mit zwei Bakterienstämmen ergaben, daß die Werte zwischen 1 : 10 und 1 : 1280 lagen, wobei die Schwankungen sowohl von den Zahnpasten als auch den Teststämmen abhängig waren. Eine Zahnpasta war bei beiden Stämmen noch bei einer Verdünnung von 1 : 1280 wirksam. Drei Zahnpasten wiesen als MHK bei dem einen Stamm 1 : 640, beim anderen 1 : 320 auf. Zwei Zahnpasten hatten bei beiden Stämmen Werte von 1 : 10.

4.5. Mit sechs Zahnpasten wurde die Abtötungszeit für Neisserien, Bacillus subtilis und Escherichia coli geprüft. Nur bei Neisserien wurden von vier der sechs Zahnpasten die Keime nach 1 min Einwirkungszeit vollständig abgetötet. Eine Zahnpasta wirkte erst nach 60 min bakterizid, eine andere erwies sich nach 60 min noch als bakteriostatisch.

Alle sechs Zahnpasten töteten innerhalb der Versuchsdauer Bacillus subtilis und Escherichia coli nur teilweise ab. Bei allen drei Stämmen hatte die stärkste Verminderung der Keimzahlen bereits nach 1 min stattgefunden.

4.6. Mittels Keimträgerversuch und Membranfiltration wurde ermittelt, ob konzentrierte Zahnpasten bakteriostatisch oder bakterizid wirksam sind. Der größte Teil der Zahnpasten wirkte auf Neisseria nach 24-stündiger Zahnpastaeinwirkung bakterizid.

Mit der Membranfiltration prüften wir 1 : 10 verdünnte Zahnpasten mit Neisserien und Bacillus subtilis

in verschieden alten Kulturen. Der größte Teil der Zahnpasten tötete 1 Stunde alte Neisserien ab, nur sechs Zahnpasten waren hier bakteriostatisch. Auf 18 Stunden alte Neisserienkulturen wirkten 11 Zahnpasten bakteriostatisch, der Rest der Zahnpasten bakterizid.

1 Stunde alte Kulturen von Bacillus subtilis wurden nur von zwei Zahnpasten abgetötet, auf 18 Stunden alte Zellen wirkten alle Zahnpasten bakteriostatisch. Die Einwirkungsdauer der Zahnpasten betrug hier immer 24 Stunden.

Die Bakterizidie- oder Bakteriostase-Prüfung von 1 : 10 verdünnter Zahnpasta nach 4 min Einwirkungsdauer auf 18 Stunden alte Neisserien erbrachte bei 22 Zahnpasten Bakteriostase; die übrigen Pasten wirkten bakterizid.

4.7. Die erhaltenen Ergebnisse der Versuche wurden in der Diskussion bezüglich einer sinnvollen Zusammenstellung der Testmethoden bei der Herstellung von Zahnpasten in zahnmedizinischer und hygienischer Hinsicht ausgewertet.

4.8. Mittels Membranfiltration wurden 45 Zahnpasten auf ihren Keimgehalt hin untersucht. 30 Zahnpasten waren bakterienhaltig. An Mikroorganismen wurden gefunden: Bacillus, gram-negative Kokken, gram-negative Stäbchen, Staphylokokken, Flavobakterium, Pseudomonas, Staphylococcus albus, Staphylococcus aureus, Hefen, vergrünende Streptokokken, Sarzinen, Corynebakterien, gram-positive Kokken und Keime der Coligruppe.

Literaturverzeichnis

1. ADAM, W. et altera — Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel, Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart, 2. Auflage, 1969

2. BERGER, U. — Mikrobiologie der Mundhöhle, Urban & Schwarzenberg, München-Berlin, 1955

3. DM — DM-Gesundheitsmagazin 1, D 4733 E (1969)

4. EGGERS LURA, H. — Die Zahnpasta vom biologischen Gesichtspunkt, DZZ 9, 609-616 (1954)

5. EGGERS LURA, H. — Wirken Zahnpasten kariesfördernd? DDZ 8, 978-979 (1954)

6. EULER, P. — Lehrbuch der Zahnheilkunde, Verlag J.F. Bergmann, München, 1951

7. FITZGERALD, R.J. KEYES, P.H. — Dental Caries in Hamsters. Induced by Transfer of Cariogenic Plaque, J. Dent. Res. 40, 700 (1961)

   zit. bei HELMCKE, J.G. Verteilung von Bakterien in der Kariesfront, DZZ 21, 1079-1085 (1966)

8. GINS, H. A. — "HNO" - Wegweiser für die fachärztliche Praxis 16, 94-95 (1968)

9. GOTTLIEB, B. — Dental Caries, J. Dent. Res. 23, 141 (1944)

10. GÜLZOW, H.J. BUSSE, C. — Klinisch experimentelle Untersuchungen über die Wirksamkeit verschiedener Zahnputzmethoden und Zahnputzmittel, DZZ 25, 1126-1134 (1970)

11. GÜLZOW, H.J. — Mundhygiene und zahnärztliche Maßnahmen als kariesprophylaktisch wirksame Faktoren, DZZ 21, 1459-1469 (1966)

12. HAUSFELDER, W. — Untersuchungen über die Einwirkungen verschiedener Zusätze auf den Keimgehalt von Zahnpasten, Inaug. Diss. Münster/Westf. (1962)

13. HEINRICH, E. — Präventive Zahnheilkunde in der Sicht des Parodontologen, Quintessenz 11, Ref. 4246 (1970)

14. HERBERHOLZ, M. — Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß einiger neuerer Zahnpasten auf die Bakterienbesiedlung der Mundhöhle, Inaug. Diss. Dortmund (1956)

15. HERMANN, M.
ROZEIK, F.
LAMMERS, T. — Über die Beziehung zwischen Bakterien und Kariesentwicklung, DZZ 15, 1376-1382 (1960)

16. HOLTHÖFER
JUNNENACK — Lebensmittelgesetz I, 1936, 1943, 1958, 51/52, § 2 Nr. 2

17. HOLZHAUER, W. — Sind Zahnpasten schädlich? DDZ 10, 535-538 (1956)

18. HOPSTEIN — Fortschritte in der Zahn- und Mundhygiene, ZR 48, 1502-1506 (1939)

19. KETTERL, W. — Präventive Zahnheilkunde in der Sicht des Parodontologen, DDZ 23, 518-524 (1969)

20. KINKEL, H.J.
STOLTE, G. — Zur Wirkung einer Natrium-Monofluorphosphat- und Bromchlorophenhaltigen Zahnpasta im chronischen Tierexperiment und auf die Karies bei Kindern während eines 2 Jahre langen unüberwachten Gebrauches, DDZ 22, 455-460 (1968)

21. KITE, O. W. — zit. nach NAUJOCKS, R. Neuere Ergebnisse der Kariesforschung und ihre Beziehungen zur praktischen Tätigkeit des Zahnarztes, DZZ 14, 150-153 (1959)

22. KLIEWE, H. — Betrachtungen über unsere Zahnpasten, DZW 41, 911-913 (1937)

23. KLIEWE, H. — Über die Reaktion der Zahnpasten, DZW 11, 251-252 (1939)

24. KLIEWE, H. — Bakteriologische Wertbestimmung von Zahnpaste, Zahnärztliche Praxis 8, 1-2 (1957)

25. KLIEWE, H. — Die bakteriologische Bewertung moderner Zahnpasten, DZW 2, 29-32 (1936)

26. KNAP, M. und B. — Beitrag zur Kenntnis bezüglich der Wirkung von Zahnpasten, Tijdschr. Tandkeelk (holl.) (1928)

zit. nach KÖSTERS, M. über die Wirkung einiger Zahnpasten, Deutsche Monatsschrift für Zahnheilkunde 48, 8-31 (1930)

27. KOENIG, M. — Einfache Labormethode zur Prüfung des Blockierungseffektes bei Bakteriostatika und Fungistatika, Path. Microbiologie 28, 997-1004 (1965)

28. KÖSTERS, M. — Über die Wirkung einiger Zahnpasten, Deutsche Monatsschrift für Zahnheilkunde 48, 8-31 (1930)

29. KRASSE, B. — Beziehungen zwischen Laktobazillen, Candida und Streptokokken in Zahnkaries, DZZ 11, 173 (1956)

30. KÜSTER-WEISBACH — Welches ist die beste Methode zur Reinigung der Mundhöhle? Deutsche Monatsschrift für Zahnheilkunde 31, 123-137 (1913)

31. LAMMERS, T. — Bakteriologische Studien über die Mundflora und Mundhygiene, Deutsche Zahn-Mund- und Kieferheilkunde 18, 387-476 (1953)

32. LAMMERS, T. — Die Bedeutung der Zahnpasten für die Kariesprophylaxe, DDZ 8, 643-647 (1954)

33. MAIER, H. — Bakteriologische Untersuchungen über die desinfizierende Wirkung verschiedener Zahnpasten, Inaug. Diss. Tübingen (1956)

34. MAN DE, J.C.
SHARP, M.E.
A Medium for the Cultivation of Lactobacilli, J. appl. Bact. 23, 130-135 (1960)

35. MARTHALER, T.
Kariesshemmung nach fünf Jahren bei Gebrauch einer Aminfluorid-Zahnpasta, Schweizerische Monatsschrift für Zahnheilkunde 75, 509-515 (1965)

36. MATTERN, G.H.
Der Einfluß des Zähneputzens auf die Speichelflora, Inaug. Diss. Mainz (1964)

37. MICHIGAN
zit. bei EGGERS LURA, DZZ 9, 609-616 (1954)

38. MICHL, G.
Wissenschaftliche Jahrestagung der deutschen Arpa, Zahnärztliche Mitteilungen 61, 1235 (1971)

39. MILLER, W.D.
Die Mikroorganismen der Mundhöhle, Verlag Georg-Thieme, Leipzig, 1892

40. MORGENROTH, K.
Über den Foetor ex ore, DDZ 20, 67-73 (1966)

41. MÜHLEMANN, R.
Die kariesprophylaktische Wirkung der Aminfluoride, Quintessenz 18, Ref. 3192, 1-32 (1967)

42. NEUGEBAUER, H.
Handbuch der Lebensmittelchemie IX, Springer Verlag, 576, 1970

43. NOEL, H.
Untersuchungen mit modernen Mundpflegemitteln, Inaug. Diss. Mainz (1952)

44. ORLAND
zit. nach HERMANN, H., ROZEIK, F. und LAMMERS, T. Über die Beziehung zwischen Bakterien und Kariesentwicklung, DZZ 15, 1376-1382 (1960)

45. PEDERSON, P.O.
zit. nach NAUJOCKS, R. Neuere Ergebnisse der Kariesforschung und ihre Beziehungen zur praktischen Tätigkeit des Zahnarztes, DZZ 14, 150-153 (1959)

46. PORTHEINE, H.
Foetor ex ore, DDZ 20, 13-16 (1966)

47. RATHJE, R. — Der Einfluß von Teeextrakt auf entzündliche Veränderungen der Gingiva, Quintessenz 7, Ref. 4378 (1971)

48. RICHTER, H. — Untersuchungen über die antibakterielle Wirkung einiger Zahnpasten der DDR, Med. Diss. Greifswald (1965)

49. RÖTTGER, J. — Vergleichende in-vitro-Untersuchungen über die wachstumshemmende Wirkung verschiedener Zahnpflegemittel auf die aerobe Bakterienflora der Mundhöhle, Inaug. Diss. Berlin (1955)

50. SAUERWEIN, E. — Zahnerhaltungskunde, Georg-Thieme Verlag, Stuttgart, 1970

51. SCHATZ, A. KARLSON, K.E. u. MARTIN, J.J. — Destruction of tooth organic matter by oral keratinolytic microorganismus, N.Y. State dent. J. 21, 438 (1955)

52. SPITZBART, A. — Die Beeinflussung der Säurebildner der Mundhöhle durch neuartige Zahn- und Mundpflegemittel, Inaug. Diss. Düsseldorf (1951)

53. SCHWARZ. E. — Chemische Untersuchungen als Testverfahren gebräuchlicher Zahnpasten, Inaug. Diss. Tübingen (1951)

54. THUR, W. — Was ist zu den modernen Zahnpflegemitteln zu sagen, Inaug. Diss. Düsseldorf (1952)

55. WALLHÄUSER, K.H. SCHMIDT, H. — Sterilisation, Desinfektion, Konservierung, Chemotherapie, Verfahren, Wirkstoffe, Prüfungsmethoden, Georg-Thieme Verlag, Stuttgart, 1967

56. WANDELT, S. — Ein Überblick über die heute gültigen Kariestheorien, Deutscher Zahnärztekalender, Carl Hauser Verlag, 92-104, 1972

57 WANNENMACHER, E. — Lehrbuch der klinischen Zahn-Mund- und Kieferheilkunde 2, 4. Auflage, 1968

58. WANNENMACHER, E. — Die künstliche Reinigung und mechanische Beeinflussung des Kauorgans, DDZ 10, 78-82 (1956)

59. WANNENMACHER, E. — Besondere Aspekte bei Untersuchungen der Kariesgenese, Deutsche Zahn-Mund- und Kieferheilkunde 49, 306-314 (1967)

60. WERNER, R. HAFER, H. — Statistische Untersuchungen zur Kariesgenese, Zahnärztliche Rundschau 60, 476-478 (1951)

61. WOHINZ — zit. nach NOEL, H. Untersuchungen mit modernen Mundpflegemitteln, Inaug. Diss. Mainz (1952)

62. ZAHNÄRZTLICHE MITTEILUNGEN — Gegen die Flut sogenannter therapeutischer Zahnpflegemittel, ZM 42, 122 (1954)

63. ZAHNÄRZTLICHE MITTEILUNGEN — Umschau im Ausland, ZM 42, 706-709 (1954)

An dieser Stelle sei es uns gestattet, Herrn Prof. Dr. rer. nat. R. Schweisfurth für die Überlassung des Themas, für seine fachliche Anleitung und seine stete Bereitschaft, uns mit Rat zu unterstützen, zu danken.

Lebenslauf

Am 16. Juni 1943 wurde ich als Sohn der Eheleute Dr. Helmut Goedecke und Wilhelmine Goedecke, geb. Ehrhardt, in Dillingen/Saar geboren. Ich besuchte die Volksschule in Merzig/Saar und kam dann in das Alumnat Lutherhaus in Traben-Trarbach/Mosel, wo ich auch die Klassen Sexta bis Unterprima in dem staatl. neusprachl. Gymnasium besuchte.
Mein Abitur machte ich am 10. März 1966 im Institut Sigmund in Schriesheim/Bergstraße, besuchte anschließend die Universität des Saarlandes, an der ich am 12. April 1967 meine naturwissenschaftliche Vorprüfung für Zahnärzte, und am 16. Okt. 1968 die zahnärztliche Vorprüfung bestand.
Am 13. Juli 1971 legte ich die zahnärztliche Prüfung ab und erhielt am 26. August 1971 die Bestallung als Zahnarzt.
Zur Zeit bin ich als Stabsarzt bei der Bundeswehr tätig.

Lebenslauf

Am 28. Februar 1944 wurde ich als Sohn der Eheleute Dr. Oskar Häusler und Annemarie Häusler, geb. Schilz, in Dudweiler/Saar geboren.
Nach dem Besuch der Volksschule trat ich in das Knabenrealgymnasium in Saarbrücken ein, wo ich am 26. Februar 1965 mein Abitur ablegte.
Anschließend besuchte ich die Universität des Saarlandes, an der ich am 30. April 1966 meine naturwissenschaftliche Vorprüfung für Zahnärzte, und am 21. Oktober 1968 die zahnärztliche Vorprüfung bestand. Am 13. Juli 1971 legte ich die zahnärztliche Prüfung ab und erhielt am 26. August 1971 die Bestallung als Zahnarzt.
Zur Zeit bin ich als Assistent tätig.